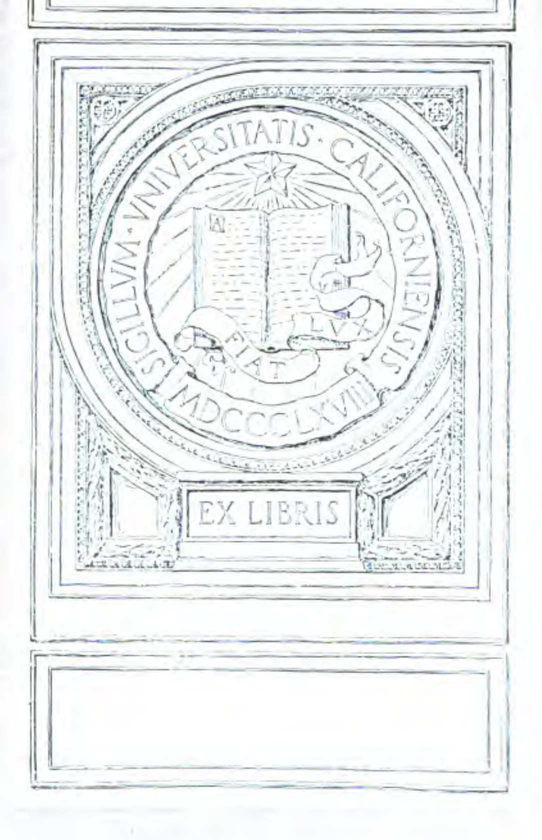

UC-NRLF
B 3 770 719


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



# ZEITSCHRIFT

für

# PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

Prof. E. BAUMANN in Freiburg, Prof. GÄHTGENS in Giessen, Prof. O. HAMMARSTEN in Upsala, Prof. HÜFNER in Tübingen, Prof. HUPPERT in Prag, Prof. JAFFE in Königsberg, Prof. E. LUDWIG in Wien, Prof. E. SALKOWSKI in Berlin und Prof. E. SCHULZE in Zürich

herausgegeben von

**F. HOPPE-SEYLER,**

Professor der physiologischen Chemie an der Universität Strassburg.

---

**ZWÖLFTER BAND.**

---

STRASSBURG
VERLAG VON KARL J. TRÜBNER
1888.

# Inhalt des zwölften Bandes.

Heft I und II.



Heft III.

---

In der Arbeit von Dr. H. Záhoř auf Seite 486, Tab. I, erste Zahl der Col. $v_1$, lies statt 0,014144: **0,14414.**

# Ueber die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Urin bei Krankheiten.

Von

**Dr. Georg Hoppe-Seyler.**

(Der Redaction zugegangen am 21. Juli 1887.)

In den letzten Jahrzehnten ist es gelungen, zahlreiche aromatische Verbindungen im Urin nachzuweisen, welche Fäulnissprocessen im Innern des Organismus ihren Ursprung verdanken.

Allerdings kennen wir noch nicht alle derartigen Stoffe, welche bei der im Körper durch die Fäulniss bewirkten Zersetzung der Eiweissstoffe entstehen und im Urin ausgeschieden werden können; verschiedene Beobachtungen weisen darauf hin, dass ausser den zahlreichen bekannten Fäulnissproducten noch unbekannte, schwierig zu isolirende Körper im Harn vorkommen, welche gleichfalls aus der Fäulniss im Organismus entspringen.

Bei der Mannigfaltigkeit der bei der Fäulniss gebildeten Körper ist es nun nicht gut möglich, aus der Menge des einen oder einiger wenigen Schlüsse auf die Intensität der Fäulnissvorgänge im Organismus zu machen, zumal, da je nach den äusseren Bedingungen, unter denen die Fäulnissvorgänge sich abspielen, die Art der Fäulnissproducte und ihr Verhältniss unter einander wechselt. Da aber ein grosser Theil derselben an Schwefelsäure gebunden als Aetherschwefelsäuren im Urin auftritt, während nur geringe Mengen in anderen Verbindungen dem Harn beigemengt sind, so kann man wohl einen ziemlich sicheren Schluss aus der Menge der an aromatische Körper gebundenen Schwefelsäure auf den Grad der Bildung von Fäulnissproducten und damit auf die Stärke der Fäulniss selbst machen.

Mit der Bestimmung der Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren in Krankheiten, bei denen Fäulnissvorgänge im Organismus in grösserem oder geringerem Maasse vorhanden sind, werden sich daher die nachfolgenden Untersuchungen besonders beschäftigen.

Die ersten Fäulnissproducte, welche im Urin aufgefunden wurden, waren die Hippursäure $CH_2 < {NH - CO - C_6H_5 \atop COOH}$ und das Phenol $C_6H_5OH$; erst später freilich wurde ihre Entstehung aus Zersetzungsproducten des Eiweisses bekannt.

Die Hippursäure ist aber im Menschenurin nur in geringen Mengen vorhanden, auch scheint ihre Hauptmasse nicht bei der Fäulniss des Eiweisses zu entstehen, sondern aus den mit der Nahrung eingeführten aromatischen Substanzen.

Viel grössere Bedeutung hat das Phenol, das zuerst von Städeler[1]) im Urin aufgefunden wurde. Von Hoppe-Seyler[2]) und Buliginski[3]) wurde dann nachgewiesen, dass die grösste Masse von Phenol in gebundenem Zustand im Urin vorhanden ist. Die Ausscheidungsverhältnisse desselben wurden auch von J. Munk[4]) näher untersucht.

Ueber die Entstehung und die Form der Ausscheidung des Phenols im Harn brachten die Untersuchungen von Baumann aber erst grössere Klarheit.

Baumann[5]) erkannte, dass das Phenol in ätherartiger Verbindung im Urin vorhanden ist, und stellte das phenol- und kresolschwefelsaure Kalium aus dem Harn dar. Das phenolschwefelsaure Kalium hat nach seinen Untersuchungen die Formel: $C_6H_5O - SO_4 - OK$, ist also dem Kalisalz der Phenolschwefelsäuren: $C_6H_4 < {OH \atop SO_3H}$ isomer.

---

1) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. LXXVII, S. 17.

2) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. V, S. 471.

3) Med.-chem. Untersuchungen, herausgeg. v. Hoppe-Seyler, 1866—70, S. 234.

4) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XII, S. 142.

5) Ebenda, Bd. XII, S. 69; Bd. XIII, S. 285.

Während man früher an den Ursprung des im Urin auftretenden Phenols und Kresols aus den aromatischen Substanzen der Nahrung gedacht hatte, fand Baumann[1]), dass bei Eiweissfäulniss mit Pancreas Phenole entstehen, deren Hauptmasse nach späteren Untersuchungen von Baumann und Brieger[2]) aus Parakresol besteht. Dementsprechend fand Weyl[3]), dass das Parakresol seinen Ursprung dem Tyrosin verdankt, welches bei Fäulniss mit Pancreas aus Eiweiss reichlich gebildet wird, und Brieger[4]), dass Phenole auch in den Fäces und im Darminhalt vorhanden sind.

Aus diesen Untersuchungen war der Schluss zu ziehen, dass die Phenole des Harnes der Eiweissfäulniss im Darm ihren Ursprung verdanken. Es lag nun der Gedanke nahe, Krankheiten, namentlich wenn sie direct den Darm betreffen, in Bezug auf ihren Einfluss auf die Ausscheidung des Phenols im Urin zu untersuchen.

Dies veranlasste Brieger[5]), den Phenolgehalt des menschlichen Urins in verschiedenen Krankheiten zu bestimmen. Er fand, dass aus normalem Urin nur 0,013—0,099 gr. Tribromphenol für den Tag zu erhalten ist, ferner, dass bei Anaemie, Kachexie, auch wenn viel indigobildende Substanz im Urin vorhanden ist, derselbe nur wenig Phenole liefert, ebenso bei Magenkrankheiten, ausser bei Carcinoma ventriculi, wobei Vermehrung auftritt. Bei Phthise, acuten Exanthemen, Leber- und Herzaffectionen, auch bei Typhus fanden sich ziemlich normale Werthe. Bei Cholera nostras und Icterus catarrhalis trat Vermehrung auf. Bei letzterem ergab eine Bestimmung der Aetherschwefelsäuren 0,011 gr. pro die. Bei Peritonitis acuta war viel Phenol vorhanden, so lange Obstipation bestand, weniger, sobald Diarrhoe eintrat. Als die betreffende Kranke aufstand, waren nur Spuren im Urin

---

1) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. I, S. 63.

2) Ebenda, Bd. III, S. 149.

3) Ebenda, Bd. III, S. 312.

4) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. X, S. 1027; Journal f. pract. Chemie, Bd. 17, S. 134.

5) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. II, S. 241.

zu finden, obwohl noch ziemlich viel indigobildende Substanz darin nachweisbar war. Auch bei Peritonitis tuberculosa trat Vermehrung auf; bei putriden Erkrankungen, Empyem, Puerperalfieber war starke Vermehrung zu constatiren. Obstipation führte nicht immer zu Vermehrung der Phenole. Indigobildende Substanz und Phenol waren in wechselndem Verhältniss zu einander vorhanden. Nach Eingabe von Tyrosin war die Menge des Phenols und der Aetherschwefelsäuren vermehrt. Es war also das Phenol im Urin in solchen Fällen vermehrt, bei denen die Fäulniss sich im Darmkanal oder in pathologischen Herden im Organismus besonders stark entwickeln konnte.

Die Bildung des Phenols im Darmkanal stellt man sich nach Baumann[1]) wohl am besten auf folgende Weise vor: Aus dem Eiweiss entsteht bei der Fäulniss im Darmkanal Tyrosin, dasselbe wird nun weiter in Hydroparacumarsäure $C_6H_4 < {OH \atop C_2H_4 - CO_2H}$ und Paroxyphenylessigsäure $C_6H_4 < {OH \atop CH_2 - CO_2H}$ verwandelt; aus letzterer entsteht weiterhin Parakresol $C_6H_4 < {OH \atop CH_3}$ und aus diesem Phenol $C_6H_5 - OH$. Hydroparacumarsäure und Paroxyphenylessigsäure wurden von Baumann auch aus normalem Urin dargestellt; sie sind zum Theil an Schwefelsäure gebunden, zum Theil ungebunden darin enthalten. Auch fand er, dass bei pathologischen Vorgängen zugleich mit den Phenolschwefelsäuren auch die beiden erwähnten Oxysäuren vermehrt sind, also die Bildung der Phenole und Oxysäuren parallel läuft.

Ein Theil des Phenols wird im Körper weiter oxydirt und erscheint als Brenzkatechin und Hydrochinon ($C_6H_4(OH)_2$) im Urin. Brenzkatechinschwefelsäure wurde von Baumann[2]) in jedem Menschenurin in Spuren gefunden.

---

1) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. IV, S. 304.

2) Arch. f. d. ges. Phys., Bd. 12, S. 69.

Brenzkatechin selbst wurde schon früher von Ebstein[1]) und Müller, Fürbringer[2]) und Fleischer[3]) im menschlichen Urin nachgewiesen.

Eine ebenfalls schon längere Zeit bekannte, aber erst vor einigen Jahren rein dargestellte Verbindung, das sogenannte Harnindican, hat sich ebenfalls als ein Product der Eiweissfäulniss im Thierkörper und als eine Aetherschwefelsäure herausgestellt.

Nachdem von Heller und Anderen das Auftreten blauer und violetter Farbstoffe im Urin beobachtet war, fand Hill-Hassal[4]), dass der so auftretende blaue Farbstoff Indigo sei. Schunck[5]) zeigte dann, dass der Indigo im Urin nur in gebundenem Zustand vorhanden ist, und dachte an eine Verbindung mit Zucker, an ein Glycosid, ähnlich dem Glycosid, welches in Pflanzen sich findet, von ihm untersucht und Indican genannt wurde; denn bei Fällung mancher menschlicher Urine mit Bleiacetat und Ammoniak erhielt er im Niederschlag einen nicht gefärbten Körper, welcher, mit Salzsäure behandelt, Indigo liefert. Hoppe-Seyler[6]) constatirte dieses Verhalten beim Urin verschiedener Fleisch- und Pflanzenfresser; auch bei lange dauernder reiner Fleischkost fand sich die indigobildende Substanz im Urin vor, so dass eine Herkunft aus dem Pflanzenindican nicht wahrscheinlich war. Es fand sich ferner, dass die Bildung von Indigo aus dem Urin nur erfolgt bei gleichzeitiger Anwesenheit von Sauerstoff, dass also nicht nur eine Spaltung, sondern auch eine Oxydation des indigobildenden Körpers dabei stattfindet. Jaffé[7]) entdeckte dann den Zusammenhang der indigobildenden Substanzen mit dem Indol, da subcutane Injection von Indol reichliches Auftreten derselben im Urine ver-

1) Arch. f. path. Anat., Bd. LXII, S. 554.
2) Berl. klin. Wochenschr., 1875, No. 24—28.
3) Ebenda, 1875, No. 39—40.
4) Philos. Magaz., 1853, Septbr.
5) Ebenda, Bd. XIV. S. 288.
6) Arch. f. path. Anat., Bd. XXVII, S. 388.
7) Centralbl. f. med. Wissensch., 1872, No. 1.

ursachte. Dieses Verhalten bestätigen die späteren Versuche von Nencki und Masson[1]), sowie von Baumann (s. u.). Peurosch[2]) fand im Urin von Kaninchen, die mit frischem Fleisch gefüttert wurden, indigobildende Substanz, viel davon auch bei Grasfütterung, keine bei Fütterung mit verschiedenen Amylacea, Zucker, entfettetem trockenem Fleisch, Extracten von Gras.

Durch die Untersuchungen von Baumann wurde nun festgestellt, dass die indigobildende Substanz nicht mit dem Pflanzenindican übereinstimmt, da das letztere sehr zersetzlich ist, so dass in neutraler Lösung eine Zersetzung zu Indigo gar nicht vermieden werden kann, während die erstere im neutralen oder alkalischen Urin auch beim Eindampfen keine Spaltung erfährt. Es gelang Baumann und Brieger[3]), aus dem Harn von Hunden, denen viel Indol beigebracht worden war, das indoxylschwefelsaure Kalium darzustellen, nachdem schon vorher festgestellt war, dass es sich um eine Aetherschwefelsäure handeln müsse. Dasselbe hat nach ihren Analysen die Formel: $C_8H_6NKSO_4$. Es zerfällt bei gleichzeitiger Einwirkung von starken Mineralsäuren und oxydirenden Substanzen wie Eisenchlorid oder Chlor in Indoxyl und schwefelsaures Alkali; das Indoxyl wird dann weiter zu Indigo oxydirt. Dieser Vorgang verläuft nach der Formel:

$$\underset{\text{indoxylschwefelsaures Kalium}}{C_8H_6NKSO_4} + H_2O = \underset{\text{Indoxyl}}{C_8H_6NOH} + KHSO_4$$

$$2\,(H_8H_6NOH) + O_2 = \underset{\text{Indigo.}}{C_{16}H_{10}N_2O_2} + 2\,H_2O.$$

Es gelang mir auch, das indoxylschwefelsaure Kalium aus normalem Hundeharn darzustellen[4]).

Doch wiesen verschiedene Beobachtungen darauf hin, dass im Urin ausser dem indoxylschwefelsauren Kalium noch andere Indoxylverbindungen vorkommen, welche bei Spaltung

1) Jahresber. d. Thierchem., 1874, S. 221.

2) Beitr. z. Lehre über Entstehung des Indicans im Thierkörper. Diss. Königsberg 1877.

3) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. III, S. 254.

4) Ebenda, Bd. VIII, S. 79.

und Oxydation Indigo liefern. Da das indoxylschwefelsaure Kalium im Urin bei der Fäulniss schwer zerstört wird, so war es auffallend, dass in manchen Fällen bei kurzem Stehenlassen des Urins sich Indigo abschied.

Schmiedeberg[1]) sprach die Vermuthung aus, dass es sich dabei um eine Glycuronsäureverbindung des Indoxyls handele; dies wurde durch die Beobachtung von Külz[2]) bestätigt, dass der Urin bei Indoleingabe manchmal Linksdrehung zeigt, eine Eigenschaft, die den Glycuronsäureverbindungen zukommt. Die Orthonitrophenylpropiolsäure, welche zum Theil als Indoxyl im Urin ausgeschieden wird, liefert ebenfalls neben viel Indoxylschwefelsäure eine Indoxylverbindung, die sich leichter zersetzt und zu Linksdrehung der Polarisationsebene Veranlassung giebt. Ich fand dieselbe besonders dann, wenn sehr viel von der Substanz eingegeben wurde, so dass die Schwefelsäure des Urins ganz an aromatische Stoffe gebunden war und keine Sulfate sich mehr im Urin nachweisen liessen[3]). Diese Verbindungen treten jedoch nur selten im Urin und dann nur in geringer Menge auf.

Die pathologische Bedeutung der Indoxylverbindungen wurde von Jaffé entdeckt.

Jaffé[4]) bestimmte den Gehalt an Indoxyl im Urin annähernd nach dem durch Salzsäure und Chlorkalk gebildeten und ausgeschiedenen Indigo, indem er denselben abfiltrirte und wog. Er wies so eine erhebliche Steigerung der Indoxylausscheidung nach bei Unwegsamkeit des Dünndarms, während bei Verlegung des Dickdarms keine oder nur geringe Vermehrung zu constatiren war, dann bei eiteriger Peritonitis und endlich bei Diarrhoen, welche ihren Sitz im Dünndarm haben, während er bei Dysenterie, Diarrhoe in Folge Stercoralanhäufung im Dickdarm, Dickdarm- und Gastroduodenalkatarrh dies nicht fand[5]). Bei Versuchen mit Hunden[6]) war

1) Arch. f. exper. Path. u. Pharm., Bd. XIV, S. 307.
2) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 30, S. 485.
3) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. VII, S. 426.
4) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. III, S. 448.
5) Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1872, No. 1, 31 u. 32.
6) Arch. f. path. Anat., Bd. LXX, S. 72—111.

nach Unterbindung des Dünndarms die Indoxylmenge vermehrt, nicht nach der des Dickdarms, und Jaffé erklärt dies so, dass, während normaler Weise auf dem Wege durch den Dünndarm die Verdauungsproducte, sowie Leucin und Tyrosin resorbirt werden, bei Unterbindung des Dünndarms der daselbst zurückgehaltene Speisebrei intensiv fault und dabei neben anderen Spaltungsproducten des Eiweisses Indol bildet, das im Urin als indigobildende Substanz erscheint. Bei Unwegsamkeit des Dickdarms aber werden die Verdauungsproducte etc. wie normal resorbirt. Auch bei den anderen Krankheiten, bei denen er Vermehrung der indigobildenden Substanzen nachweisen konnte, nimmt Jaffé Störung der Resorption der Verdauungs- und ersten Fäulnissproducte an.

Senator[1]) fand nach Schätzung des daraus gebildeten Indigos, dass die indigobildenden Substanzen besonders bei chronischen Consumtions- und Inanitionsstörungen vermehrt sind, in Fällen also, wo die Kranken wenig geniessen und das Genossene schlecht verarbeiten: bei Ileus, Peritonitis, Carcinoma ventriculi, multiplen Lymphomen, besonders in der Bauchhöhle, und vorgeschrittener Phthise.

De Vries[2]), welcher unter Edlefsen's Leitung arbeitete, constatirte starke Ausscheidung der indigobildenden Substanzen bei Brechdurchfall, weniger bei einfachem Dünndarmkatarrh. Bei Magenkrebs mit Diarrhoe, tuberculösen Darmgeschwüren, Phthisis mit Diarrhoe ohne Geschwüre, bei Typhus abdominalis war die Ausscheidung vermehrt, aber nur dann, wenn Diarrhoe bestand. Bei Unwegsamkeit des Dünndarms war immer viel indigobildende Substanz vorhanden, dagegen nicht bei Dickdarmkatarrh in Folge Kothretention, bei Verschluss des Dickdarms und bei Koprostase. Bei Koprostase trat sie auf, wenn Laxantien gereicht wurden. Auch zeigte sich bei Einwirkung von Abführmitteln auf den intacten Darm Vermehrung derselben im Urin.

---

1) Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1877, No. 20, 21 u. 22.

2) Ueber Indican im Harn und seine diagnostische Bedeutung. Diss. Kiel 1877.

Ewald[1]) fand in einem Fall von Dünndarmfistel, so lange die Fistel bestand, kein Indoxyl und Phenol im Urin, dagegen traten diese Substanzen auf nach Verschluss der Fistel und freier Communication mit dem unteren Darmende; er verlegt daher die Indolbildung in den unteren Theil des Dünndarms und glaubt, dass die Verdauungsproducte theils resorbirt, theils durch die Fistel nach aussen entleert wurden, so dass keine Zersetzung derselben eintrat.

Henniga[2]) sah viel Indoxyl im Urin auftreten bei perniciöser Anaemie, Typhus, Bleikolik, Trichinosis, Peritonitis, Cholera nostras, acutem Magenkatarrh, chronischem Darmkatarrh, Leber- und Magenkrebs, bei Phthise (wechselnd je nach der Darmerkrankung), chronischen Eiterungen, progressiver Muskelatrophie und Morbus Addisonii. Er bestätigte also im Wesentlichen die Befunde anderer Autoren, führte aber die Bildung der indigobildenden Substanzen zum Theil auf vermehrten Zerfall des Organeiweisses und Veränderung des Pancreassecrets zurück.

Nach Untersuchungen von Salkowski[3]) und Müller[4]) nimmt das Indoxyl im Hunger ab, verschwindet aber nie. Bei Neugeborenen wurde von Senator[5]) Indoxyl im Urin vermisst.

Eine der Indoxylschwefelsäure sehr ähnliche Substanz entdeckte Brieger[6]) im Urin: die Skatoxylschwefelsäure $C_9H_8NO - SO_2 - OH$. Dieselbe ist im normalen Menschenurin gewöhnlich in grösserer Menge, als die Indoxylschwefelsäure vorhanden und giebt mit Chlor und Salzsäure eine violettrothe Farbe. Brieger stellte dieselbe aus Urin nach Eingabe von Skatol ($C_9H_9N$) dar.

Die Indoxyl- und Skatoxylschwefelsäure verdanken dem Indol und Skatol ihre Entstehung, indem der Organismus

---

1) Arch. f. path. Anat., Bd. 75, S. 409.
2) Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 23, S. 271—287.
3) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 1876, S. 408.
4) Mittheilungen aus der Würzburger Klinik, 1886.
5) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IV, S. 1.
6) Ebenda, Bd. IV, S. 418.

ihre Hydroxylverbindung bildet und dann an Schwefelsäure gebunden ausscheidet. Diese beiden Substanzen aber bilden sich bei der Fäulniss des Eiweisses neben Tyrosin und seinen Derivaten.

Das Indol wird nach Nencki[1]) bei Fäulniss von Eiweiss und Pancreas gebildet. Kouko-Yasnopolsky[2]) fand es auch bei Eiweissfäulniss ohne Pancreas, wenn dieselbe bei alkalischer Reaction stattfindet. Brieger[3]) gewann es neben Phenol und Skatol aus Fäces, doch vermisste er es im Typhus und bei Hunden; es ist also kein constanter Bestandtheil des Koths. Von Salkowski[4]) wurde auch die Bildung desselben in den Geweben des Organismus angenommen. Baumann[5]) zeigte, dass bei der Eiweissfäulniss mit Pancreas zuerst Indol, dann Phenol auftritt. Auch Weyl[6]) und Jeanneret[7]) fanden Indolbildung bei Fäulniss von Eiweiss sowohl nach Zusatz von Pancreas, als auch nach reinem Wasserzusatz. Daher nahm Jaffé[8]) Indolbildung in den abgeschnürten Dünndarmtheilen und in dem in Folge pathologischer Processe schlecht resorbirenden Darm an. Auch bei Pancreasfäulniss von Mucin fand Wälchli[9]) Bildung von Indol, so dass man auch einen Theil des Indols von der Fäulniss des von der Darmwand gelieferten Schleims herleiten kann. Kühne[10]) fand keine Indolbildung bei reiner Trypsinwirkung auf Eiweiss; es muss das Indol daher durch die Fäulnisserreger aus dem Eiweiss abgespalten werden. Künstlich stellte Nencki[11]) Indol und Skatol durch Schmelzen von Eiweiss mit Kali dar.

---

1) Ueber Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei Fäulniss mit Pancreas. Bern 1876.

2) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 12, S. 78—86.

3) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 10, S. 1027 ff.

4) Ebenda, Bd. 9, S. 408.

5) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. I, S. 60—69.

6) Ebenda, Bd. I, S. 339.

7) Journ. f. pract. Chemie, N. F., Bd. 15, S. 353 ff.

8) Arch. f. path. Anat., Bd. 70, S. 72—111.

9) Journ. f. pract. Chemie, N. F., Bd. 17, S. 71—78.

10) Untersuchungen aus dem physiol. Institut in Heidelberg, Bd. I, S. 291—324.

11) Journ. f. pract. Chemie, N. F., Bd. 17, S. 97—105.

E. und H. Salkowski[1]) kamen bei Fäulnissversuchen mit Eiweiss zu der Ueberzeugung, dass Skatol und Indol dabei sich vertreten können, dass beide aus einer gemeinsamen, im Eiweiss präformirten Muttersubstanz stammen, die je nach der Art der dabei thätigen Bacterien bald mehr Skatol, bald mehr Indol liefert, und zwar so, dass Skatol ganz fehlen kann. Die verschiedenen Eiweissarten liefern verschiedene Mengen von Indol. Nach 2 Tagen ist sehr viel Indol vorhanden, doch ist es vorher schon nachweisbar. Zunächst wird Indol frei in Form einer noch unbekannten Zwischenstufe, welche allmählich weiter gespalten wird.

Im Secret einer Dünndarmfistel konnte Baumann[2]) kein Indol und Skatol nachweisen, es waren daher im Urin auch nur Spuren von Indoxyl vorhanden. Hirschler[3]) untersuchte die Fäces bei Fleischfütterung mit Zusatz von Kohlehydraten, Milchsäure und Glycerin und fand dann weniger Indol, Skatol und Phenol darin, als ohne diese; die Fäulniss im Darm wird also durch einen derartigen Zusatz zur Nahrung eingeschränkt.

Das Skatol ($C_9H_9N$) wurde, wie schon erwähnt, zuerst von Brieger[4]) aus Fäces, von Nencki[5]) aus einem fünf Monate lang faulenden Gemisch von Pancreas und Fleisch dargestellt und seine Zusammensetzung eruirt. Reichlich wurde dasselbe von Brieger[6]) ferner aus Blutalbumin mit Pancreas und Wasser, nachdem dieses Gemisch 6—10 Tage lang bei 36° gefault hatte, von Nencki[7]) aus faulendem Rinderhirn, wenn dasselbe einige Zeit auf 35—40° gehalten wurde, gewonnen.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VIII, S. 417—466.

2) Ebenda, Bd. X, S. 127.

3) Ebenda, Bd. X, S. 306 ff.

4) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. X, S. 1027—1032, und Journ. f. pract. Chemie, N. F., Bd. 17, S. 124—138.

5) Centralbl. f. med. Wissensch., 1878, No. 47, und Journ. f. pract. Chemie, N. F., Bd. 19, S. 466 ff.

6) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XII, S. 1985 ff.

7) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IV, S. 371—372; ebenda, Bd. VIII, S. 417 ff.

E. und H. Salkowski[1]) fanden bei ihren Untersuchungen über die Eiweissfäulniss die Skatolcarbonsäure in ihren Fäulnissgemischen. Dieselbe hat die Zusammensetzung $C_{10}H_9NO_2$, wird aber durch Fäulniss und Trypsin nicht weiter gespalten und, eingegeben, unverändert aus dem Organismus ausgeschieden; sie kann also nicht die Muttersubstanz der Skatoxylschwefelsäure sein.

Die Entstehungsweise von Indol und Skatol und ihr Verhältniss unter einander ist durch die angeführten Untersuchungen noch nicht ganz klar gestellt. Jedenfalls stehen sie zu einander in enger Beziehung, auch lassen sie sich künstlich in einander überführen[2]). Bei Dünndarmaffectionen tritt im Allgemeinen mehr Indoxyl, bei Dickdarmaffectionen mehr Skatoxyl im Urin auf. Wie schon erwähnt, enthält Menschenurin normaler Weise mehr Skatoxyl, als Indoxyl.

Neben den erwähnten Aetherschwefelsäuren treten nun noch unbekannte derartige Verbindungen im Urin auf, wie Bestimmungen ergeben, die Brieger machte, indem er die Menge der bekannten Fäulnissproducte, welche Paarung mit Schwefelsäure eingehen, mit der Menge der Aetherschwefelsäure verglich. Ferner erscheint ein Bruchtheil der aromatischen Fäulnissproducte in ungebundener Form als Oxysäuren: Hydroparacumarsäure, Oxyphenylessigsäure im Urin, ein Theil scheint sich an Glycuronsäure zu binden. Dass die letzteren Verbindungen nicht sehr massenhaft auftreten, beweist der Umstand, dass auch Urine, welche von Kranken mit starken Fäulnissprocessen im Organismus stammen, keine Drehung der Polarisationsebene zeigen, die vorhanden sein müsste, wenn grössere Mengen dieser Verbindungen im Urin enthalten wären.

Da nun eine exacte Bestimmung der Oxysäuren und der Glycuronsäureverbindungen bis jetzt nicht gut möglich ist, ausserdem nach den Erfahrungen von Baumann[3]) die Menge der ersteren im selben Maasse wie die der Aetherschwefelsäuren vermehrt zu sein pflegt, schien den besten Maassstab für

---

1) Ebenda, Bd. IX, S. 18 ff.
2) Filati, Gazz. chim. ital., Bd. 13, S. 378.
3) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IV, S. 304 ff.

die Ausscheidung der Fäulnissproducte im Urin die Menge der an solche Substanzen gebundenen Schwefelsäure zu geben.

Freilich wies bald nach ihrer Entdeckung von den Velden[1]) nach, dass die Menge der gebundenen Schwefelsäure bei normalen Menschen je nach der Nahrungsaufnahme sehr bedeutend schwankt. Das Verhältniss der in den Sulfaten vorhandenen, «präformirten», zu der mit aromatischen Substanzen gepaarten, «gebundenen», Schwefelsäure, welches in der Folge durch a : b bezeichnet werden wird, schien ihm noch am constantesten zu sein. Er fand 0,61—0,09 gr. Schwefelsäure in gepaarter Verbindung für den Tag. Das Verhältniss a : b war 6,9—12,7, im Mittel 9,5.

Baumann und Herter[2]) fanden noch etwas weiter differirende Werthe, so dass sie nur noch dann eine Vermehrung der Aetherschwefelsäuren annehmen, wenn bedeutend mehr gebundene Schwefelsäure, als normal, vorhanden und zugleich die präformirte vermindert ist.

Wie bedeutsam die Zusammensetzung der Nahrung ist, zeigen auch die oben erwähnten Versuche von Hirschler.

Durch Desinfection des Darmkanals wird die Menge der Aetherschwefelsäure sehr verringert. Morax[3]) fand, dass bei Eingabe von Jodoform die Aetherschwefelsäuremenge ganz minimal wird; Calomel wirkt in solcher Weise nur, wenn Diarrhoe zugleich eintritt[4]). Beim hungernden Thier nehmen die Aetherschwefelsäuren ab, verschwinden aber nicht ganz, ebensowenig wie das Indol. Dies wurde theils als Beweis für die Bildung der Aetherschwefelsäuren in den Geweben des Körpers, theils als Folge von Fäulniss der abgestossenen Zellen und der Secrete des Darmkanals angesehen. Im Blute und in den Organen wurde phenolbildende Substanz von Baumann[5]) gefunden: doch besteht dieselbe nur zum Theil aus Phenolschwefelsäure, zum grösseren aus anderen unbekannten Verbindungen, die im Organismus in Phenolschwefel-

1) Arch. f. path. Anat., Bd. 70, S. 343.
2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. I, S. 244.
3) Ebenda, Bd. X, S. 129.
4) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. X, S. 129.
5) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 13, S. 11 ff.

säure umgewandelt werden. Senator[1]) fand auch im Urin neugeborener Kinder und im Fruchtwasser geringe Mengen von Aetherschwefelsäuren, welche wohl aus den mütterlichen Geweben stammen.

Es lag nun nahe, auch den Urin bei Krankheiten, welche mit Störungen der Darmfunction, mit Fäulnissprocessen im Organismus einhergehen, auf Aetherschwefelsäuren zu untersuchen. So fand Salkowski[2]) reichliche Mengen davon im Urin von Kranken mit Darmverschluss und Peritonitis, das Verhältniss a : b war 5,3 und 3,5, also unterhalb des normalen Mittelwerths.

Die pathologische Bedeutung der Aetherschwefelsäuren wurde zuerst in grösserem Maassstabe von Brieger untersucht. Brieger[3]) machte bei den verschiedensten Krankheiten Bestimmungen der Ausscheidung der Fäulnissproducte, indem er die Menge der Phenole durch Wägung bestimmte, die Menge der Oxysäuren und des Indoxyls schätzte und in einigen Fällen auch die Menge der Aetherschwefelsäure wog. Es fand sich kein Parallelismus zwischen Indoxyl- und Phenolausscheidung. Die Oxysäuren waren im Allgemeinen zugleich mit dem Phenol vermehrt, doch trat bei schwerer Anaemie auch zugleich mit sehr geringem Phenolgehalt Vermehrung derselben auf. Bei Icterus catarrhalis, Gelenkrheumatismus, Pneumonie waren die Werthe der Aetherschwefelsäure erhöht trotz der geringen Mengen von bekannten aromatischen Substanzen, was auf noch unbekannte Paarlinge der Schwefelsäure hindeutet.

Bei Herabsetzung des allgemeinen Stoffwechsels, bei mangelhafter Blutbildung, beschränkter Functionsfähigkeit lebenswichtiger Organe fand Brieger kaum je eine erhebliche Steigerung der Phenolausscheidung, ebenso wenig bei Intermittens, Variola, Meningitis cerebrospinalis, Typhus abdominalis, ausser wenn Peritonitis dazu trat. Auch hohes Fieber erhöhte die Phenolausscheidung nicht. Dagegen war

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IV, S. 1.
2) Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1876, S. 818.
3) Zeitschr. f. klin. Med., Bd. III, S. 465.

dieselbe vermehrt bei Ileus, Peritonitis, Perityphlitis und manchen Fällen von Carcinoma ventriculi, in Fällen also, wo durch Verschluss oder Atonie des Darms gesteigerter putrider Zerfall der Nahrung eintritt, ferner bei allen putriden Vorgängen ausserhalb des Darmkanals: Pleuritis, Bronchitis putrida, Gangraena pulmonum, Magen- und Mastdarmcarcinom.

Bei Diphtherie, Erysipelas und in einzelnen Fällen von Pyaemie und Scharlach trat eine Vermehrung des Phenols ein, die Brieger auf kleinste Nekrosen im Gewebe zurückführt. Er nannte diese Krankheiten daher «Fäulnisskrankeiten».

In serösen oder rein eiterigen Flüssigkeiten aus Brust- und Bauchhöhle waren nie Fäulnissproducte nachzuweisen, in jauchigen dagegen fehlten Indol, Phenol und Oxysäuren selten. Bei freier Communication mit der Luft trat eine Veränderung in der Zersetzung des Eiters auf, so dass das Indol daraus verschwand.

Vermehrung der Aetherschwefelsäuren konnte Brieger nachweisen: bei schwerer Anaemie, putrider Bronchitis, Mastdarm- und Magencarcinom, Diphtherie und Pyaemie, geringe Vermehrung bei Pneumonie und Intermittens.

Normale Mengen fand er bei Phthisis pulmonum, Ulcus ventriculi, Icterus catarrhalis, Gelenkrheumatismus und Scharlach. Er konnte eine directe Abhängigkeit der Aetherschwefelsäuremenge im Urin von den Fäulnissvorgängen im Organismus in einem Fall von Bronchitis putrida nachweisen.

Doch ist die Zahl der Analysen noch zu gering, wie Brieger selbst angiebt, um die Verhältnisse der Aetherschwefelsäureausscheidung in Krankheiten vollständig übersehen zu können.

Es schien mir daher von Werth zu sein, bei passenden Krankheitsfällen Bestimmungen der Aetherschwefelsäuremenge vorzunehmen, um so die Abhängigkeit der im Urin ausgeschiedenen Fäulnissproducte von den einzelnen Krankheiten und ihren Stadien aufzuklären.

Zunächst habe ich noch einige Bestimmungen der gepaarten Schwefelsäure im normalen Urin bei der in der hiesigen Klinik üblichen gemischten Kost angestellt.

Zur Erleichterung der Uebersicht stelle ich die verschiedenen Analysen in der nachstehenden Tabelle zusammen.

| Name, Krankheit. | Datum. | Urin | | Schwefelsäure in toto | | Schwefelsäure % | | a/b | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Menge. | spec. Gew. | a) präf. | b) gebund. | a) präf. | b) gebund. | | |
| Normal I . . . . . . | — | 2010 | — | 3,426 | 0,268 | 0,165 | 0,013 | 12,4 | Etwas Indoxyl. |
| » II . . . . . . | — | 1830 | 1015 | 3,202 | 0,280 | 0,175 | 0,015 | 11,4 | do. |
| » III . . . . . . | — | 1750 | 1020 | 2,957 | 0,157 | 0,169 | 0,015 | 11,4 | Kein Indoxyl. |
| » IV . . . . . . | — | 1390 | 1020 | 2,085 | 0,175 | 0,150 | 0,013 | 11,5 | |
| 1. Magdalene N. Dilatatio ventriculi. | 19./X. | 700 | 1024 | 2,142 | 0,343 | 0,306 | 0,049 | 6,2 | |
| 2. Wilhelm S. Carcinoma ventriculi. | 21./XI. | 1160 | — | 1,135 | 0,163 | 0,098 | 0,014 | 6,9 | Wenig Indoxyl. |
| 3. Karoline R. Typhus abdominalis. | 8./XI. | 1400 | — | 2,087 | 0,123 | 0,149 | 0,009 | 16,8 | Fiebernd. |
| | 17./XI. | 600 | — | 1,517 | 0,134 | 0,253 | 0,022 | 11,2 | Fieberfrei. |
| 4. Hans H. Typhus abdominalis. | 21./XI. | 1510 | — | 2,200 | 0,191 | 0,146 | 0,013 | 11,5 | Fiebernd. |
| | 12./XII. | 2000 | — | 2,857 | 0,279 | 0,143 | 0,014 | 10,2 | Fieberfrei. |
| 5. Hans S. Typhus abdominalis. | 12./XII. | 540 | — | 1,328 | 0,190 | 0,246 | 0,035 | 6,0 | Vor der Perforation. |
| | 24./XII. | (200) | — | (0,537) | (0,072) | 0,269 | 0,036 | 7,4 | Nach der Porforation. |
| 6. Friedrich T. Typhus abdominalis. | — | 1000 | — | 0,814 | 0,136 | 0,081 | 0,013 | 5,9 | |
| 7. Heinrich B. Myelitis, Dickdarmgeschwüre. | 12./XI. | 650 | — | 1,485 | 0,650 | 0,228 | 0,100 | 2,2 | Viel Indoxyl. |
| | 15./XI. | 680 | — | 1,336 | 0,361 | 0,196 | 0,053 | 3,7 | do. |

| Name, Krankheit. | Datum. | Urin | | Schwefelsäure in toto | | Schwefelsäure % | | a/b | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Menge. | spec. Gew. | a) präf. | b) gebund. | a) präf. | b) gebund. | | |
| 8. Martha J. Darmtuberculose. | 3./X. | — | — | — | — | 0,164 | 0,056 | 4,4 | Viel Indoxyl. |
| 9. Sophie J. Tuberculose. | 10./IV. | (270) | 1022 | — | — | 0,159 | 0,060 | 2,6 | Viel Indoxyl. |
| | 15./IV. | 700 | 1022 | 1,170 | 0,465 | 0,167 | 0,066 | 2,5 | do. |
| | 21./IV. | 900 | 1015 | 1,401 | 0,408 | 0,156 | 0,045 | 3,4 | do. |
| | 30./IV. | 800 | 1023 | 1,448 | 0,416 | 0,181 | 0,052 | 3.4 | do. |
| 10. Mine F. Peritonitis carcinomatosa. | 20./X. | 200? | — | 0,538 | 0,138 | 0,269 | 0,069 | 3,9 | Viel Indoxyl. |
| | 4./XI. | 500 | — | 1,205 | 0,340 | 0,241 | 0,068 | 3,3 | do. |
| 11. Anna K. Peritonitis purulenta. | 18./I. | 400 | 1021 | 2,547 | 0,447 | 0,553 | 0,117 | 4,9 | Sehr viel Indoxyl. |
| | 19./I. | 635 | 1020 | 2,952 | 0,648 | 0,468 | 0,103 | 4,4 | do. |
| 12. ? Ileus. | 24./XII. | (72) | 1020 | — | — | 0,463 | 0,084 | 5,5 | Sehr viel Indoxyl. |
| 13. Emma L. Chron. Peritonitis. | 20./XII. | 1000 | — | 1,653 | 0,135 | 0,165 | 0,013 | 12,2 | |
| | 23./XII. | (150) | — | — | — | 0,421 | 0,046 | 10,2 | Skatoxyl, kein Indoxyl. |
| | 25./XII. | 900 | — | 2,664 | 0,234 | 0,296 | 0,026 | 11,5 | |
| | 28./XII. | 1200 | — | 1,147 | 0,173 | 0,095 | 0,014 | 6,6 | Etwas Indoxyl. |
| 14. Martha S. Diaceturie. | 1./VI. | 650 | 1034 | 1,433 | 0,254 | — | — | 5,6 | |
| | 2./VI. | 700 | 1025 | 1,632 | 0,258 | — | — | 6,3 | |

| Name, Krankheit. | Datum. | Urin | | Schwefelsäure in toto | | Schwefelsäure % | | a/b | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Menge. | spec. Gew. | a) präf. | b) gebund. | a) präf. | b) gebund. | | |
| 15. Kathrine M. Diaceturie. | 10./IV. | — | — | — | — | 0,245 | 0,025 | 9,6 | Obstipation; viel Skatoxyl, kein Indoxyl. |
| | 22./IV. | 320 | 1015 | 0,467 | 0,027 | 0,146 | 0,008 | 17,4 | Kein Indoxyl und Skatoxyl, viel Acetessigsäure. |
| | 26./IV. | 700 | 1017 | 0,564 | 0,094 | 0,081 | 0,013 | 6,0 | Indoxyl und Skatoxyl, wenig Acetessigsäure. |
| | 5./V. | 910 | — | 1,237 | 0,108 | 0,136 | 0,012 | 11,4 | Keine Acetessigsäure. |
| 16. Anna T. Peritonitis stercoralis. | 1./XII. | 700 | 1018 | 0,654 | 0,291 | 0,093 | 0,011 | 2,2 | Viel Indoxyl. |
| | 2./XII. | 1050 | 1018 | 1,643 | 0,571 | 0,156 | 0,054 | 2,8 | |
| | 3./XII. | 860 | 1019 | 1,453 | 0,567 | 0,169 | 0,066 | 2,5 | |
| | 4./XII. | 730 | 1018 | 1,339 | 0,485 | 0,183 | 0,066 | 2,7 | Viel Indoxyl. |
| | 5./XII. | 1100 | 1017 | 1,862 | 0,772 | 0,169 | 0,070 | 2,4 | |
| | 6./XII. | 600 | 1020 | 1,031 | 0,473 | 0,172 | 0,079 | 2,1 | |
| | 7./XII. | 630 | 1020 | 1,145 | 0,515 | 0,182 | 0,081 | 2,2 | |
| | 8./XII. | 400 | 1022 | 0,823 | 0,337 | 0,206 | 0,084 | 2,4 | |
| | 9./XII. | 280 | 1019 | 0,575 | 0,318 | 0,203 | 0,114 | 1,8 | |
| 17. Marie M. Peritonitis stercoralis. | 18./II. | 400 | 1028 | 1,205 | 0,347 | 0,302 | 0,087 | 3,4 | Viel Indoxyl. |
| | 19./II. | 500 | 1025 | 1,953 | 0,298 | 0,391 | 0,059 | 6,5 | |
| | 20./II. | 650 | 1024 | 1,491 | 0,256 | 0,229 | 0,039 | 5,8 | |
| | 21./II. | 350 + x | 1024 | 0,886 | 0,206 | 0,253 | 0,059 | 4,2 | |
| | 22./II. | 250 + x | 1023 | — | — | 0,257 | 0,061 | 4,2 | Viel Indoxyl. |
| | 23./II. | 500 | 1021 | 1,215 | — | 0,242 | — | — | do. |

| Name, Krankheit. | Datum. | Urin | | Schwefelsäure in toto | | Schwefelsäure % | | a/b | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Menge. | spec. Gew. | a) präf. | b) gebund. | a) präf. | b) gebund. | | |
| 17. Marie M. Peritonitis stercoralis. | 24./II. | 600 | 1020 | 1,145 | 0,322 | 0,190 | 0,053 | 3,5 | Weniger Indoxyl. |
| | 25./II. | 800 | 1017 | 1,256 | 0,268 | 0,157 | 0,034 | 4,6 | |
| | 26./II. | 700 | 1011 | 0,694 | 0,173 | 0,099 | 0,024 | 4,0 | Skatoxyl, kein Indoxyl. |
| | 27./II. | 100+x | — | — | — | 0,237 | 0,040 | 5,9 | do. do. |
| | 2./III. | 500 | — | 0,990 | 0,151 | 0,198 | 0,030 | 6,5 | Wenig Indoxyl, viel Skatoxyl. |
| | 4./III. | 500 | — | 1,075 | 0,188 | 0,215 | 0,037 | 5,7 | do. |
| | 5./III. | 100+x | — | — | — | 0,258 | 0,044 | 5,8 | Viel Indoxyl. |
| | 6./III. | 400 | — | 1,440 | 0,378 | 0,360 | 0,094 | 3,8 | do. |
| | 7./III. | 500 | — | 1,530 | 0,432 | 0,306 | 0,085 | 3,5 | Sehr viel Indoxyl. |
| | 8./III. | 760 | — | 2,827 | 0,790 | 0,372 | 0,102 | 3,6 | Operation. |
| | 9./III. | 500 | — | 1,805 | 0,401 | 0,361 | 0,080 | 4,5 | Wenig Indoxyl, mehr Skatoxyl. |
| | 10./III. | 260 | — | — | — | 0,327 | 0,086 | 3,8 | |
| | 11./III. | 470 | — | 1,020 | 0,177 | 0,217 | 0,038 | 5,8 | |
| | 13.-16./III. | 460 | — | 1,132 | 0,394 | 0,246 | 0,086 | 2,8 | Viel Skatoxyl. |
| | 17.-19./III. | 333 | — | 0,849 | 0,267 | 0,255 | 0,080 | 3,1 | Viel Skatoxyl und Indoxyl. |
| | 21.-24./III. | 452 | — | 1,198 | 0,279 | 0,265 | 0,062 | 4,1 | |
| | 25.-28./III. | 480 | 1022 | 0,867 | 0,154 | 0,180 | 0,032 | 5,6 | |
| | 29.-1./IV. | 350 | 1026 | 0,692 | 0,189 | 0.198 | 0,053 | 3,6 | Wenig Indoxyl. |
| | 2.-5./IV. | 560 | — | 0,711 | 0,112 | 0,127 | 0,020 | 6,3 | |
| | 6.-9./IV. | 1000 | — | 0,810 | 0,051 | 0,081 | 0,005 | 15,8 | Sehr wenig Indoxyl. |
| | 10.-13./IV. | 800 | 1014 | 0,880 | 0,211 | 0,110 | 0,026 | 4,1 | Nach Naphthalin; wenig Indoxyl. |

| Name, Krankheit. | Datum. | Urin | | Schwefelsäure in toto | | Schwefelsäure % | | $\frac{a}{b}$ | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Menge. | spec. Gew. | a) präf. | b) gebund. | a) präf. | b) gebund. | | |
| 18. ? Peritonitis, Pleuritis putrida etc. | — | — | — | — | — | 0,155 | 0,121 | 1,2 | Viel Indoxyl. |
| 19. Marie O. Pyelitis, Cystitis putrida. | 16./XII. | — | — | — | — | 0,175 | 0,035 | 5,0 | |
| | 17./XII. | — | - | — | — | 0,120 | 0,041 | 2,9 | |
| | 18./XII. | — | — | — | — | 0,161 | 0,035 | 4,6 | |
| | 21./XII. | — | — | — | — | 0,174 | 0,035 | 5,0 | |
| | 23./XII. | 850 | — | 1,331 | 0,164 | 0,157 | 0,019 | 8,1 | |
| | 24./XII. | 750 | — | 1,298 | 0,113 | 0,173 | 0,015 | 11,7 | Viel Indoxyl und Skatoxyl. |
| | 28./XII. | 1600 | — | 1,991 | 0,228 | 0,124 | 0,014 | 8,7 | |
| 20. Peter F. Putrider Abscess, Scharlach. | 22./XII. | 400 | 1012 | 0,604 | 0,136 | 0,151 | 0,034 | 4,5 | |
| | 24./XII. | 300 | 1016 | 0,550 | 0,069 | 0,183 | 0,023 | 7,9 | |
| | 25./XII. | 500 | 1010 | 0,481 | 0,078 | 0,096 | 0,015 | 6,1 | Ziemlich viel Indoxyl. |
| | 26./XII. | 500 | 1012 | 0,364 | 0,055 | 0,059 | 0,011 | 6,7 | Kein Indoxyl. |
| | 27./XII. | 750 | 1010 | 0,407 | 0,171 | 0,054 | 0,023 | 2,3 | do. |
| | 29./XII. | 850 | 1012 | 0,714 | 0,111 | 0,084 | 0,012 | 6,9 | |
| 21. H. Abscess in der einen Lunge. | — | — | — | — | — | 0,129 | 0,026 | 5,0 | |

Von den normalen Urinen sind I und II nach einer Nahrung mit viel Fleisch und wenig Amylacea erhalten, während III und IV bei einer Kost mit viel Amylacea gelassen wurden. Den oben erwähnten Versuchen von Hirschler entsprechend ist die Menge der Aetherschwefelsäuren bei I und II grösser, als bei III und IV. Das Mittel der täglichen Ausscheidung ist 0,220, während das Mittel von a : b 11,6 ist. Die Menge der Aetherschwefelsäuren war also durchschnittlich geringer, als in den Analysen von von den Velden.

Ich wende mich nun zur Erläuterung der Krankheitsfälle, bei denen ich derartige Bestimmungen machte. Die ersten Fälle betreffen Krankheiten des Magens und Darmkanals.

Die Kranke Magdalene N., Tab. No. 1, litt an einer starken Magendilatation, wahrscheinlich in Folge narbiger Strictur des Pylorus, ihr Mageninhalt enthielt reichlich Sarcine, Hefe und flüchtige Fettsäuren, dabei bestand, wohl in Folge der abnormen Zersetzung der Nahrung im Magen, etwas Diarrhoe. Die Nahrung bestand in Fleischbrei, Milch, Maizena und Haferschleim. Es war aber trotz der abnormen Zersetzungen im Verdauungskanal keine sehr erhebliche Steigerung der Aetherschwefelsäuren eingetreten.

Bei einem Mann mit zerfallendem Pyloruscarcinom (Tab. No. 2), sehr starker Anaemie und Kachexie, aber noch gutem Appetit und geringer Obstipation war ebenfalls keine Vermehrung der Aetherschwefelsäuren aufgetreten, obwohl die Ernährung sehr gelitten hatte und wohl die Functionen des Magen-Darmkanals nicht normal waren. Es trat wohl in Folge der noch gut erhaltenen und schnell erfolgenden Resorption der Verdauungsproducte keine wesentliche Fäulniss im Darmkanal ein und daher blieb eine Vermehrung der gebundenen Schwefelsäure aus.

Um die Fäulniss im Darmkanal bei Typhus abdominalis zu beurtheilen, mögen die folgenden in verschiedenen Stadien der Erkrankung gemachten Bestimmungen dienen.

Der Urin eines Mädchens (Tab. No. 3), welches an mittelschwerem Typhus litt, enthielt am 9. Krankheitstag, als Patientin hohes Fieber und geringe Diarrhoe hatte, normale, sogar etwas geringe Mengen von Aetherschwefelsäure. Am 18. Krankheitstage bei subfebriler Temperatur, festem Stuhlgang waren ebenfalls normale Mengen vorhanden, doch etwas mehr, als früher.

Die Nahrung bestand in Milchsuppen, Bouillon und ähnlichen flüssigen Speisen.

Bei einem Mann (Tab. No. 4), dessen Typhus am 24. Krankheitstage recidivirte, enthielt der Urin am 25. Krankheitstag bei Fieber und etwas Obstipation, einer Nahrung wie No. 3 normale Mengen von gepaarter Schwefelsäure. Am 46. Tag bei normaler Temperatur und regelmässigem Stuhlgang, als Patient etwas Fleisch zu der früheren Diät bekam, hatte die Menge der Aetherschwefelsäure zugenommen, blieb aber noch innerhalb normaler Grenzen.

Der unter No. 5 aufgeführte Mann litt an schwerem Typhus. Am 14. Krankheitstag wurde die erste Analyse gemacht bei hoher Temperatur und mässiger Diarrhoe; sie ergab keine wesentliche Vermehrung der Aetherschwefelsäure. Am 25. Krankheitstage trat, nachdem profuse Darmblutungen vorangegangen waren, Perforation des Dünndarms, wie die Section ergab, 15 cm. oberhalb der Ileocoecalklappe ein. Am 26. Krankheitstag Abends starb der Kranke; der an diesem Tage Morgens gelassene Urin enthielt zwar viel Indoxyl, während früher nur wenig vorhanden war, a : b war aber fast genau so, wie am 14. Krankheitstag. Die 24stündige Urinmenge liess sich leider nicht feststellen.

Bei der Section fanden sich freilich ziemlich grosse Mengen von Darminhalt im Peritoneum, aber möglicherweise war am Morgen des Todestages wenig erst in die Bauchhöhle eingeflossen, so dass nur wenig Fäulnissproducte resorbirt werden konnten. Und dann könnte, entsprechend den Erfahrungen von E. und H. Salkowski bei der Fäulniss von Eiweissstoffen, das reichliche Vorhandensein von Indoxyl so erklärt werden, dass bei den veränderten Bedingungen, unter

denen der Darminhalt stand, mehr Indol als sonst an Stelle anderer Fäulnissproducte gebildet wurde.

Bei einem anderen Typhuskranken (Tab. No. 6) enthielt der Urin ebenfalls keine abnorm grosse Tagesmenge von Aetherschwefelsäure, dagegen war a : b subnormal. Der Kranke hatte vorher Kartoffeln, Schwarzbrod, Bohnen etc. gegessen und am Tage vorher mehrmals Tct. opii bekommen. Es mag daher wohl in Folge Retention des unzweckmässigen Darminhalts eine Steigerung der Fäulnissvorgänge im Darm stattgefunden haben.

In den geschilderten Fällen von Typhus abdominalis war also keine deutliche Vermehrung der Aetherschwefelsäuren nachweisbar, es war zur Zeit, wo Fieber und Diarrhoe bestand, die Menge geringer, als unter normalen Verhältnissen. Vielleicht ist dies so zu erklären, dass die Fäulnissproducte während der Diarrhoe zu rasch entfernt werden, um ergiebig aufgenommen werden zu können. Jedenfalls tritt trotz der mangelhaften Resorption der normalen Verdauungsproducte keine stärkere Fäulniss im Darm auf, ausser wenn der Darminhalt künstlich zurückgehalten wird.

Bei dem unter No. 7 erwähnten Mann bestand neben chronischer Myelitis ein starker Katarrh der Dickdarmschleimhaut mit zahlreichen kleinen Geschwüren, wie die Section später ergab; der Dünndarm war nur sehr wenig angegriffen, im Coecum und Colon ascendens fanden sich bei der Section Narben in der Schleimhaut. Es bestand fortwährende Diarrhoe mehrere Monate hindurch bis zum Tode, auf welche Opiumtinctur keine deutliche Einwirkung ausübte. Die beiden Analysen wurden $2^1/_2$ Monate vor dem Tode ausgeführt, als der Kranke sehr dünnen Stuhlgang hatte. Es fand sich eine bedeutende Vermehrung der Aetherschwefelsäuren und eine Menge Indoxyl im Urin.

Auch in einem Fall (Tab. No. 8) von sehr ausgebreiteten tuberculösen Geschwüren im Dickdarm und daher bestehender starker Diarrhoe war die Aetherschwefelsäuremenge vermehrt und reichlich Indoxyl im Urin vorhanden.

Bei einer sehr anaemischen Frau (Tab. No. 9), welche an geringer Lungentuberculose ohne deutliche Cavernenbildung litt, war der Leib fortwährend meteoristisch aufgetrieben, es bestanden häufig ziemlich starke Kolikschmerzen, der Stuhlgang war im Anfang angehalten, breiig, später regelmässiger. Dabei bestand geringes Fieber. Während Neigung zu Obstipation vorhanden war, war die Aetherschwefelsäuremenge, wie die Bestimmungen vom 10. und 15. April zeigen, erhöht, zugleich war viel Indoxyl im Urin vorhanden. Als der Stuhl dann regelmässiger wurde, war nach den Analysen vom 21. und 30. April die Aetherschwefelsäureausscheidung ein klein wenig geringer. Die Nahrung war gemischt, aber leicht verdaulich. Wahrscheinlich handelte es sich in diesem, wie in dem vorhergehenden Fall um Darmtuberculose. Die vermehrte Ausscheidung der Fäulnissproducte beruht dann wohl in den drei letzten Fällen auf mangelhafter Resorption der Verdauungsproducte und weitergehender Zersetzung derselben in dem erkrankten Darmkanal.

Im Urin einer an Carcinom des Peritoneums, welches wahrscheinlich vom Magen ausging, leidenden Frau (Tab. No. 10) fand sich viel Aetherschwefelsäure und Indoxyl. Es bestand bei ihr Ascites, beginnende Kachexie, fast tägliches Erbrechen saurer, galliger Massen. Dabei war die Darmentleerung regelmässig.

Eine andere Frau (Tab. No. 11) litt seit längerer Zeit an Verstopfung in Folge einer Ovarialcyste, welche das Rectum comprimirte; es waren dann peritonitische Erscheinungen aufgetreten. Fünf Tage nach Beginn der Peritonitis enthielt der Urin sehr viel Indoxyl und eine vermehrte Menge von Aetherschwefelsäuren. Bei der Section ergab sich eine eiterige Peritonitis ohne Perforation des Darms.

In den beiden vorerwähnten Fällen bestand in Folge der, in dem einen carcinomatösen, im anderen eiterigen Peritonitis eine Störung der Resorption aus dem Darm, ähnlich wie in den vorhergehenden Fällen. In wieweit das wahrscheinlich vorhandene Magencarcinom in dem Falle 10 zu abnormer Zusammensetzung des Darminhalts beitrug, lässt

sich nicht genau beurtheilen, doch war in dem unter No. 2 aufgeführten Fall von Magenkrebs keine deutliche Vermehrung der Aetherschwefelsäuren zu finden. Brieger fand freilich eine deutliche Vermehrung der Fäulnissproducte bei dieser Erkrankung.

In einem Fall von Ileus (Tab. No. 12), hervorgerufen durch Compression des Darms gleich oberhalb der Ileocoecalklappe durch einen Strang, fand sich bei grossen Indoxylmengen nur eine geringe Vermehrung der Aetherschwefelsäuren. Die Abwesenheit einer grösseren Menge von Glycuronsäureverbindungen wurde durch das Fehlen von Drehung der Polarisationsebene bewiesen. Das Missverhältniss von Indoxyl- und Aetherschwefelsäureausscheidung in diesem Fall erinnert an den oben erwähnten Fall von Perforationsperitonitis bei einem Typhuskranken.

Eine Kranke (Tab. No. 13) litt an einer von einem Typhus mit Nekrose der Mesenterialdrüsen ausgehenden chronischen Peritonitis, welche oft längere Zeit hindurch keine Erscheinungen machte, nur zu häufiger hartnäckiger Obstipation Anlass gab. Zu einer Zeit, als sie seit mehreren Tagen keine Darmentleerung gehabt hatte, ohne aber peritonitische Symptome zu zeigen, war die Menge der Aetherschwefelsäuren ganz normal. Als dann reichliche Stuhlentleerung eintrat, nahm die Aetherschwefelsäure etwas zu, blieb aber noch normal. Dabei war kein Indoxyl, aber viel Skatoxyl im Urin vorhanden. Dann folgte wieder zweitägige Obstipation, die Aetherschwefelsäuremenge nahm etwas zu, ohne aber normale Grenzen zu überschreiten. Es traten darauf peritonitische Symptome auf, welche Gebrauch von Opium nothwendig machten; der Urin enthielt nun Indoxyl, a : b sank ziemlich, die Tagesmenge der Aetherschwefelsäuren war aber nicht vermehrt.

Die Menge der Aetherschwefelsäuren war also nicht vermehrt während der Obstipation und nach erfolgter Darmentleerung. Als dann peritonitische Reizung auftrat, zeigte sich eine Verminderung von a : b, aber keine Vermehrung der absoluten Menge der Aetherschwefelsäuren; es beruhte

die Verminderung von a : b also auf einer Verminderung der Sulfate, wahrscheinlich herrührend von der geringeren Nahrungsaufnahme in Folge der Peritonitis. Zugleich trat auch hier eine qualitative, keine quantitative Veränderung der Fäulnissproducte ein, indem Indoxyl in grösserer Menge im Urin erschien.

Ferner habe ich bei zwei Fällen von Diaceturie Bestimmungen der Aetherschwefelsäuren gemacht.

In dem einen Falle (Tab. No. 14), welchen ich schon früher veröffentlicht[1]) habe, handelte es sich um ein Mädchen mit Schwefelsäurevergiftung, welche 3 Tage nach Einnahme der Säure starke Magenschmerzen und Erbrechen bekam, so dass sie nur wenig Nahrung bei sich behielt. Am 6. Tag trat Acetessigsäure im Urin auf, die Menge der Aetherschwefelsäure war ziemlich hoch an diesem und dem folgenden Tag.

In dem anderen Falle (Tab. No. 15) wurde wegen starker Schmerzen in der Magengegend nach dem Essen nur sehr wenig Zwieback, Milch und Haferschleim aufgenommen. Zugleich bestand Diarrhoe in Folge von Dickdarmkatarrh. Der Urin war spärlich und enthielt keine nachweisbare Menge von Indoxyl. Die Aetherschwefelsäuremenge war ganz minimal. In den nächsten Tagen wurde allmählich mehr Nahrung eingeführt, darunter auch Ei. Der Gehalt an Acetessigsäure nahm ab, die Menge der Aetherschwefelsäure zu, zugleich waren Skatoxyl und Indoxyl im Urin vorhanden.

Es lässt sich aus diesen Bestimmungen kein deutlicher Einfluss der Vorgänge, welche das Auftreten von Acetessigsäure im Urin veranlassen, auf die Ausscheidung von Fäulnissproducten erkennen. Die sehr geringe Menge derselben im 2. Fall zugleich mit starker Diaceturie weist darauf hin, dass nur geringfügige Fäulnissvorgänge im Darm stattfanden, obwohl dabei Dickdarmkatarrh bestand. Dagegen war in dem Urin der ersterwähnten Kranken eine ziemlich grosse

---

1) Zeitschr. f. klin. Medicin, Bd. VI, Heft 5.

Menge Aetherschwefelsäure auf der Höhe der Diaceturie nachweisbar.

Eine Bestimmung, welche einige Zeit vorher bei der 2. Kranken, nachdem eine Woche lang vollständige Obstipation bestanden hatte, im Urin ausgeführt wurde, ergab einen normalen Werth für a : b; es war zugleich zwar Skatoxyl, aber kein Indoxyl nachzuweisen.

Bei den bis jetzt geschilderten Fällen handelte es sich um Fäulnissvorgänge, die im Verdauungskanal ihren Sitz hatten; in den folgenden aber liegt die Quelle eines Theiles der im Urin auftretenden Fäulnissproducte in Gegenden des Organismus, welche solche normaler Weise nicht zu bilden scheinen.

Der erste derartige Fall betraf eine Frau (Tab. No. 16), welche schon seit längerer Zeit öfters an peritonitischen Erscheinungen gelitten hatte. Vor ihrer Aufnahme hatte die Kranke schon 10 Tage lang wieder peritonitische Symptome gezeigt. Sie erbrach sehr häufig saure gallige Massen und erhielt daher Opium. Der Urin enthielt sehr viel Indoxyl und bedeutend mehr Aetherschwefelsäure als normal. Als das Erbrechen am 3. December nachliess, änderte sich dies nicht wesentlich. Es erfolgte dann dünner Stuhlgang, der Urin wurde reichlicher und weniger concentrirt, als früher, enthielt aber noch mehr Aetherschwefelsäure. Bei der nun folgenden Diarrhoe war es nicht mehr möglich, genau die ganze Urinmenge zu erhalten; die Zahlen für die folgenden Tage sind daher wohl etwas zu niedrig, doch zeigt das Verhältniss a : b, dass eine bedeutende Vermehrung der gebundenen Schwefelsäure bestand. In dem Destillat des Urins waren immer grosse Mengen von Phenol vorhanden; der Urin drehte aber nie die Polarisationsebene. Am 9. December starb die Kranke und bei der Section stellte sich eine alte Perforation des Coecums heraus, die in das in eine grosse Kothhöhle verwandelte Peritoneum führte, aus dem ein secundärer Durchbruch wieder in die oberste Jejunumschlinge mündete.

Ganz ähnlich lagen die Verhältnisse in dem folgenden Fall (Tab. No. 17). Die betreffende Kranke hatte häufig an Stuhlverstopfung gelitten und vier Tage vor der ersten Untersuchung des Urins (18. Februar) sehr heftige Schmerzen im Leib und Erbrechen bekommen. Sie erbrach fäculent riechende Massen, es bestand sehr starke Druckempfindlichkeit des Bauches. Der Urin enthielt viel Indoxyl, die Aetherschwefelsäuremenge war vermehrt. In den nächsten Tagen nahm das Erbrechen ab, der Zustand besserte sich auch sonst, die Aetherschwefelsäuremenge sank. Am 21. Februar hörte das Erbrechen fäculenter Massen ganz auf, nachdem Stuhlgang erfolgt war. Die Nahrung bestand bis dahin in Milch, Haferschleim, Bouillon, Eiereiweiss und Pepton. In den nächsten Tagen, an denen Patientin Milchsuppen, Haferschleim, Bouillon und Milch genoss, besserte sich der Zustand noch weiter, die Kranke hatte regelmässigen Stuhlgang, die Schmerzen liessen nach. Die Menge der gebundenen Schwefelsäure verringerte sich aber nicht wesentlich, obwohl der Indoxylgehalt abnahm. Am 26. wurde das bis dahin gegebene Opium abgesetzt, am 27. war kein Indoxyl mehr nachzuweisen, dagegen viel Skatoxyl vorhanden, die Menge der Aetherschwefelsäuren sank. Da traten in der Nacht vom 4. zum 5. März wieder heftige Leibschmerzen, sowie galliges Erbrechen auf. Es war nun wieder viel Indoxyl im Urin nachweisbar, ohne dass die Menge der gepaarten Schwefelsäure wesentlich vermehrt gewesen wäre. Am 6. und 7. dauerten die peritonitischen Symptome fort, daher wurde Tinctura opii in häufigen Dosen gegeben; auf Klysma erfolgte nur wenig Stuhlgang. Zugleich stieg die Menge der Aetherschwefelsäure. Nun wurde, da der Zustand der Kranken sehr elend geworden war, in der Mittellinie des Bauches ein Einschnitt gemacht, dadurch eine mit kothig riechendem Inhalt gefüllte Höhle eröffnet; auch rechts und links etwa handbreit davon entfernt wurden noch Incisionen angelegt, aus denen ebensolche Flüssigkeit ausfloss. Bei der Operation wurde nur eine minimale Menge Phenol, sonst Sublimat zur Desinfection angewendet. In dem Urin war am nächsten Tag sehr viel Aetherschwefelsäure, mehr

als vorher, enthalten. Die Menge sank dann, während der Zustand der Kranken sich besserte, zugleich trat an Stelle von Indoxyl mehr Skatoxyl. In der Zeit vom 13. zum 16. März war wieder mehr Aetherschwefelsäure vorhanden. Am 17. trat wieder Erbrechen ein und Indoxyl erschien wieder im Urin, aber weniger, als vor der Operation, daneben war viel Skatoxyl vorhanden. Der Stuhlgang war von nun an bis auf eine vorübergehende Obstipation am 23. regelmässig, aus den Wunden entleerte sich am 19. nur wenig übelriechender, grünlicher Eiter. In den folgenden Tagen besserte sich die Kranke immer mehr, der Eiter verlor seinen übeln Geruch, am 30. März war er ganz gutartig. Zugleich nahm die Aetherschwefelsäuremenge ab, in der Zeit vom 29. März zum 1. April aber wieder zu, was auf die zur selben Zeit bestehende Diarrhoe, wohl eine Folge abnormer Zersetzungen im Darmkanal, zurückgeführt werden dürfte. Dann sank die Menge der gebundenen Schwefelsäure wieder und zuletzt waren nur noch sehr geringe Mengen davon und von Indoxyl nachweisbar. Die Communication des Darmes mit der Bauchhöhle scheint sich geschlossen, die Höhle sich nach aussen entleert zu haben. Der Appetit war gut, der Stuhl breiig und regelmässig. Es wurde nun dreimal täglich 0,3 Naphthalin gegeben. In Folge der aus diesem gebildeten Aetherschwefelsäure stieg die Menge derselben wieder an, Indoxyl war aber nur in geringer Menge vorhanden.

Es ist in diesem Falle sehr gut möglich, an der Hand der Aetherschwefelsäureausscheidung die Stärke der Fäulnissvorgänge in der mit Darminhalt gefüllten Peritonealhöhle zu verfolgen. Die Entleerung der Höhle führt nach einigen Tagen ein Sinken der Menge derselben herbei und, als dann die Secretion der Höhle eitrig wird, geht die Ausscheidung der gebundenen Schwefelsäure auf ganz kleine Werthe zurück.

Auch im Urin einer Frau (Tab. No. 18), welche an jauchiger Peritonitis, Pleuritis und Lungengangrän litt, war a : b sehr niedrig, die Menge der Aetherschwefelsäuren also

sehr vermehrt. Dabei war viel Indoxyl im Urin vorhanden, derselbe drehte die Polarisationsebene aber nicht.

Die Kranke, welche unter No. 19 aufgeführt ist, litt an einer rechtsseitigen Pyelitis nebst Cystitis, vielleicht in Folge von Perforation vom Darm aus in die Harnwege. Der Urin enthielt eine Menge sehr stinkenden, manchmal etwas nach Darminhalt riechenden Eiters; es war darin ziemlich viel Indoxyl und eine etwas vermehrte Menge von Aetherschwefelsäuren nachzuweisen. Die Blase wurde nun mit Borwasser ausgespült, dann Jodoformemulsion hineingebracht. In Folge dessen wurde die Reaction des Harns, die bis dahin alkalisch gewesen war, sauer. Zunächst war es nicht möglich, die ganze Urinmenge zu messen, doch zeigte das Verhältniss a : b eine allmähliche Abnahme der Aetherschwefelsäuren unter dem Einfluss der Therapie an, der Urin enthielt aber immer noch viel Indoxyl und die stinkende Eiterbeimengung verlor sich nicht ganz.

Im folgenden Fall (Tab. No. 20) handelt es sich um einen kleinen Knaben, welcher an einem putriden Abscess in der Nähe des einen Hüftgelenks litt und dazu sich mit Scharlach inficirt hatte. Die in den ersten Tagen der Scharlacherkrankung vorgenommene Untersuchung ergab eine Vermehrung der Aetherschwefelsäuren, zugleich war reichlich Indoxyl vorhanden. Dabei bestand geringes Fieber. Zwei Tage später, nachdem die Höhle mit Sublimatlösung ausgespült worden war, war die Menge der gebundenen Schwefelsäure gesunken. In den nächsten Tagen blieb die Menge derselben ziemlich gleich, obwohl das Indoxyl verschwand. Am 25. December wurde der Verband gewechselt und dann derselbe mehrere Tage ohne Drainirung der Höhle liegen gelassen. Obwohl nun am 29. beim Verbandwechsel die Secretion aus der Wunde eine rein eitrige, nicht übelriechende und kein Indoxyl im Urin vorhanden war, stieg doch in diesen Tagen die Aetherschwefelsäuremenge. Dies rührte wohl von einer Verhaltung faulender Stoffe in der Tiefe des Abscesses her. Es trat denn auch, als ein Drain in die Tiefe eingelegt wurde, wieder jauchige Secretion aus der Oeffnung

ein. Die Zurückhaltung faulender Stoffe im Körper äusserte sich also in einer vermehrten Ausscheidung von gebundener Schwefelsäure im Urin.

Auch bei einem Mann (Tab. No. 21), welcher in der einen Lunge einen Abscess mit sehr stark stinkendem Inhalt hatte, war eine Vermehrung der Aetherschwefelsäure nachzuweisen.

Aus den Bestimmungen der Aetherschwefelsäuremenge des Urins in den erwähnten Fällen scheinen sich mir folgende Schlüsse zu ergeben:

1. Mangelnde oder aufgehobene Resorption der normalen Verdauungsproducte, wie sie bei Ileus, Peritonitis, tuberculöser Darmerkrankung u. s. w. auftritt, führt zu Vermehrung der Aetherschwefelsäuren in Folge weiter gehender Zersetzung der Verdauungsproducte durch Fäulniss und Resorption der so entstandenen Substanzen.

2. Bei Typhus abdominalis ist keine Vermehrung zu constatiren, ausser etwa, wenn der Darminhalt stagnirt.

3. Einfache Koprostase hat keine Vermehrung der gebundenen Schwefelsäure zur Folge.

4. Bei Magenerkrankungen, auch wenn die Ernährung darniederliegt und gährende Massen im Magen reichlich vorhanden sind, tritt nicht immer Vermehrung der Aetherschwefelsäuren auf.

5. Fäulnissvorgänge im Organismus ausserhalb des Darmkanals haben eine vermehrte Ausscheidung zur Folge und dieselbe ist ungefähr proportional der Stärke der Fäulnissvorgänge, nimmt zu bei Retention faulender Stoffe, ab nach Entleerung derselben.

6. Die Menge der gepaarten Schwefelsäure bleibt oft ungeändert, wenn auch andere Fäulnissproducte als Paarlinge auftreten; d. h. unter veränderten Bedingungen der Fäulniss scheint ein Fäulnissproduct für das andere eintreten zu können. Besonders gut lässt sich dies bei Indoxyl und Skatoxyl verfolgen.

7. Statt des gewöhnlich in überwiegender Menge im normalen Menschenurin enthaltenen Skatoxyls tritt bei Peritonitis Indoxyl auf. Nach abgelaufener Peritonitis tritt wieder Skatoxyl dafür auf.

Diese Resultate stehen zum grössten Theil im Einklang mit den jetzt herrschenden Anschauungen über die Entstehung der an Schwefelsäure gebundenen aromatischen Stoffe, doch schliessen sie nicht eine Bildung solcher aromatischer Paarlinge in den normalen Geweben aus.

Die Untersuchungen wurden ausgeführt in der medicinischen Klinik des Herrn Professor Quincke in Kiel.

# Ueber die Beziehung einiger, in dem Harne bereits vorgebildeten, oder daraus durch einfache Proceduren darstellbaren Farbstoffe zu den Huminsubstanzen.

Von

**Dr. Ladislaus v. Udránszky.**

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium in Strassburg i. E.)
(Der Redaction zugegangen am 1. August 1887.)

(Fortsetzung.)

Es drängen sich nun zunächst die zwei Fragen auf:

1. Ist man nach der Elementaranalyse und Prüfung der beim Schmelzen mit Aetzkali gewonnenen Zersetzungsproducte berechtigt, die aus dem Harn durch Kochen mit Salzsäure gewonnenen gefärbten Substanzen in irgend eine Gruppe von chemischen Körpern einzureihen?

2. Welcher, oder welche Bestandtheile des normalen Harnes können bei ihrer Zersetzung diese Substanzen liefern?

Entstehungsweise, physikalische Eigenschaften, Zersetzungsproducte und theilweise auch die procentische Zusammensetzung sprechen dafür, dass wir es mit Huminsubstanzen zu thun haben, speciell mit solchen, welche aus Kohlehydraten unter der Einwirkung von Mineralsäuren entstehen.

Unter «Humin» wurden früher und auch in der neueren Zeit von manchen Autoren verschiedene, nicht genau characterisirte, amorphe, schwarzbraune Substanzen von der verschiedensten Herkunft verstanden, welche — wie man glaubte — der weiteren Untersuchung unzugänglich wären. Neuere

Forschungen scheinen zu ergeben, dass man den Ausdruck «Huminsubstanzen» in dem gegebenen Sinne nur für gewisse Körper anwenden darf.

Polydore Boullay und kurz darauf Malaguti[1]) waren die Ersten, die die Einwirkung von Mineralsäuren auf Kohlehydrate genauer studirten und die dabei gewonnenen Huminsubstanzen beschrieben. Auch haben die Untersuchungen von Stein[2]) und Mulder[3]) über diesen Gegenstand verschiedene interessante Thatsachen zu Tage gefördert, doch wurden diese Arbeiten wenig beachtet, bis Tollens[4]) die Sache wieder in Angriff nahm. Es folgten dann mehrere Veröffentlichungen von Fausto Sessini[5]), Conrad und Guthzeit[6]), und es bestätigte sich immer mehr, dass die Huminsubstanzen, wenn sie auch ihrer wechselnden procentischen Zusammensetzung wegen nicht als einheitliche chemische Körper, sondern vielleicht nur als Agglomerate von verschiedenen Substanzen anzusehen sind, doch eine Gruppe zusammengehöriger Körper mit characteristischen Eigenschaften darstellen.

Conrad und Guthzeit haben für die aus Kohlehydraten gewonnenen Huminsubstanzen festgestellt, dass die Ausbeute bei Anwendung von Salzsäure eine weit grössere ist, als wenn man Schwefelsäure zu ihrer Abtrennung benützt, dass die Grösse der Ausbeute mit der Concentration der angewendeten Säure Hand in Hand geht, und ferner, dass die Schwankung in der procentischen Zusammensetzung, welche zwischen 62,3—66,5 °/₀ Kohlenstoff und 3,7—4,6 °/₀ Wasserstoff variirt, davon abzuhängen scheint, dass concentrirte Säuren Huminsubstanzen mit höherem Kohlenstoffgehalt erzeugen.

---

1) Annalen der Pharmacie, Bd. XVII, S. 52.

2) Annalen der Pharmacie, Bd. XXX, S. 84.

3) Erdmann's Journ. f. prakt. Chemie, Bd. XXI, S. 203.

4) Berichte d. d. chem. Gesellsch.. Bd. VI, S. 1390.

5) Gaz. chim., Bd. X, S. 121 u. 240. Im Referate in den Berichten d. d. chem. Gesellsch., Bd. XIII, S. 1877.

6) Berichte d. d. chem. Gesellsch., Bd. XIX, S. 2844.

Herr Prof. Hoppe-Seyler war so freundlich, meine Aufmerksamkeit darauf zu lenken, ob die aus dem Harne durch Kochen mit Salzsäure abgetrennten gefärbten Zersetzungsproducte beim Schmelzen mit Aetzkali Protocatechusäure liefern. Er erlaubte mir zugleich, aus seinen noch nicht publicirten Untersuchungen Folgendes mitzutheilen:

«Die Huminsubstanzen der verschiedensten Herkunft: aus Kohlehydraten, Phenolen, Humus, Torf, Braunkohle, soweit bis jetzt die Untersuchungen reichen, haben zusammengehörig mit den Phlobaphenen das übereinstimmende Verhalten ergeben, dass sie beim Schmelzen mit Aetzkali bis über 200° C. Protocatechusäure liefern neben fetten flüchtigen Säuren und einer stickstofffreien Säure, die nicht flüchtig ist, deren Salze beim Erhitzen bereits unter der Glühhitze in sehr characteristischer Weise unter Bildung hauptsächlich gasförmiger Producte zerfallen, und deren Untersuchung noch weiter geführt werden soll.»

Die aus dem Harne durch anhaltendes Kochen mit Salzsäure abgetrennten gefärbten Substanzen hatten auch diese Eigenschaften; ich erhielt bei der Einwirkung von schmelzendem Aetzkali auf dieselben ebenfalls Protocatechusäure und einen stickstofffreien Rest, welcher die Eigenschaften einer Säure zeigte.

Da nun kein Zweifel mehr oblag, dass die freiwillige Ausscheidung in den genügend lange mit Salzsäure gekochten Harnen aus Huminsubstanzen bestand, wollte ich mich davon überzeugen, ob derjenige Körper, welcher schliesslich noch in Lösung bleibt und welchen ich durch phosphorsaures Natron aus der Lösung entfernt hatte, auch hierher gehört, oder vielleicht andere Charactere besitzt.

Weiter oben war schon erwähnt, dass es nicht gelang, diesen Niederschlag in der Weise zu zerlegen, dass man daraus die gefärbte Substanz rein und vollständig hätte gewinnen können; die Bildung der Protocatechusäure beim Schmelzen

mit Aetzkali gab mir aber eine Reaction an die Hand, mit welcher die Frage gelöst werden konnte. Ich führte deshalb mit dem möglichst gereinigten, getrockneten und pulverisirten Niederschlage in der oben geschilderten Weise das Schmelzen aus und konnte thatsächlich dann im Aetherextract der schwefelsauren Lösung des Schmelzrückstandes mit den bekannten Reactionen Protocatechusäure nachweisen.

Es muss demnach angenommen werden, dass nach Abtrennung der freiwillig ausgeschiedenen Huminsubstanzen aus dem mit Salzsäure gekochten Harne doch ein Rest von Huminsubstanzen in Lösung bleibt und die kirschrothe Färbung hervorruft. Die Huminsubstanzen sind zwar in sauren Flüssigkeiten nur sehr schwer löslich, doch kann es sehr wohl sein, dass der starke Salzgehalt des eingeengten Harnes eine Veränderung der Löslichkeitsverhältnisse bedingt.

Die Beantwortung der zweiten Frage: aus welchem Harnbestandtheile diese Huminsubstanzen entstehen können, war viel schwieriger und umständlicher. Gegen die naheliegende Annahme, dass dieselben aus den Kohlehydratbestandtheilen des Harns stammen, schien der Umstand zu sprechen, dass die Elementaranalyse einen wenn auch schwankenden, doch immerhin bedeutenden Stickstoffgehalt ergab und alle Zeichen darauf hinwiesen, dass der Stickstoff nicht nur lose angefügt, sondern wahrscheinlich in das Molecül eingetreten war, was auch daraus hervorging, dass es nur durch so bedeutende Eingriffe, wie das Schmelzen mit Aetzkali, gelang, den Stickstoff in der Form von Ammoniak zu entfernen. Ein anderer Bestandtheil des normalen Harns aber, welcher so bedeutende Mengen von Huminsubstanzen, wie ich sie gefunden, unter der Einwirkung von Mineralsäuren liefern könnte, ist nicht bekannt.

Um nun zu entscheiden, ob nicht doch die reducirende Substanz des Harnes als die Muttersubstanz der Huminverbindungen anzusehen sei, bestimmte ich das Reductionsvermögen des Harnes vor und nach dem Kochen mit Salzsäure nach der von M. Flückiger[1]) angegebenen Methode.

---

[1]) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. IX, S. 323.

Derselbe Autor hat auch die Einwirkung von Schwefelsäure auf die reducirende Substanz des normalen Urins geprüft. Er fand, dass, wenn man 50 cbcm. Harn mit 5 cbcm. 25procentiger Schwefelsäure 20 Minuten lang kocht, dann mit Natriumcarbonat neutralisirt, auf das ursprüngliche Volumen bringt und wieder titrirt, in einem Drittel der Fälle eine Zunahme der Reductionsfähigkeit des Harnes um 10—20 % constatirt werden kann.

Meine Untersuchungen in dieser Richtung ergaben, dass bei dem anhaltenden Kochen des Harnes mit Salzsäure, welches ich zur vollständigen Ausscheidung der Huminsubstanzen für nöthig fand, die reducirende Substanz vollständig zerstört wird. Die Bestimmungen wurden so ausgeführt, dass ich den Harn, in welchem die Reductionsfähigkeit vorher bestimmt wurde, nach 18stündigem Kochen mit 10 Vol.-% Salzsäure am Rückflusskühler von den ausgeschiedenen Huminsubstanzen abfiltrirte, das kirschrothe Filtrat mit Thierkohle entfärbte, mit Kalilauge neutralisirte, dann mit einigen Tropfen Essigsäure schwach ansäuerte, auf das ursprüngliche Volumen brachte und nach Flückiger's Angaben mit Fehling'scher Lösung titrirte. Bei wiederholten Versuchen fand ich immer genau übereinstimmend, dass 20 cbcm. des entfärbten Urins, 80 cbcm. Wasser und 20 cbcm. Fehling'scher Lösung den Zusatz von 20 cbcm. 0,5procentiger Traubenzuckerlösung zur vollständigen Reduction des Kupferoxyds erforderten, mit anderen Worten: der Harn hatte also sein Reductionsvermögen vollkommen eingebüsst.

Dass bei dieser Procedur nicht nur die Salzsäure, sondern auch das lange Erhitzen bei der Zerstörung der reducirenden Substanz des normalen Urins betheiligt ist, — ist um so mehr anzunehmen, da Flückiger's Versuche bereits erwiesen haben, dass nach Eindampfen des Harns bei hoher Temperatur die Reductionsfähigkeit um $^5/_6$ geringer wird.

Da nach dem angegebenen Verhalten der reducirenden Substanz im normalen Urin ein Zusammenhang zwischen ihr und den durch Kochen mit Salzsäure gewonnenen Huminsubstanzen noch mehr an Wahrscheinlichkeit gewonnen hat,

so wollte ich untersuchen, ob nicht vielleicht die Ausbeute an Huminsubstanzen zu der Grösse der Reductionsfähigkeit in einem bestimmten Verhältniss steht. Ich habe zu diesem Zwecke fünf quantitative Bestimmungen ausgeführt, welche in dieser Arbeit schon einmal erwähnt wurden, die ich jetzt aber ausführlicher nochmals angeben möchte:

I. Bestimmung.

10 Liter Harn, welcher ein ebenso grosses Reductionsvermögen zeigte, wie eine 0,155procentige Traubenzuckerlösung, lieferten nach 18stündigem Kochen mit 10 Vol.-% Salzsäure am Rückflusskühler eine Ausbeute an Huminsubstanzen von 2,3147 gr., also 0,0231 %.

Verhältniss der Reductionsfähigkeit zur Ausbeute = 100 : 14,93.

II. Bestimmung.

9,5 Liter Harn, welcher ein ebenso grosses Reductionsvermögen zeigte, wie eine 0,215procentige Traubenzuckerlösung, lieferten nach 24stündigem Kochen mit 10 Vol.-% Salzsäure am Rückflusskühler eine Ausbeute an Huminsubstanzen von 2,8953 gr., also 0,0304 %.

Verhältniss der Reductionsfähigkeit zur Ausbeute = 100 : 14,16.

III. Bestimmung.

11 Liter Harn, welcher ein ebenso grosses Reductionsvermögen zeigte, wie eine 0,232procentige Traubenzuckerlösung, lieferten nach 26stündigem Kochen mit 10 Vol.-% Salzsäure am Rückflusskühler eine Ausbeute an Huminsubstanzen von 3,6720 gr., also 0,0333 %.

Verhältniss der Reductionsfähigkeit zur Ausbeute = 100 : 14,35.

IV. Bestimmung.

8 Liter Harn, welcher ein ebenso grosses Reductionsvermögen zeigte, wie eine 0,192procentige Traubenzuckerlösung, lieferten nach 18stündigem Kochen mit 10 Vol.-%

Salzsäure am Rückflusskühler eine Ausbeute an Huminsubstanzen von 2,1784 gr., also 0,0272%.

Verhältniss der Reductionsfähigkeit zur Ausbeute = 100 : 14,14.

V. Bestimmung.

13 Liter Harn, welcher ein ebenso grosses Reductionsvermögen zeigte, wie eine 0,207procentige Traubenzuckerlösung, lieferten nach 25stündigem Kochen mit 10 Vol.-% Salzsäure am Rückflusskühler eine Ausbeute an Huminsubstanzen von 3,8132 gr., also 0,0293%.

Verhältniss der Reductionsfähigkeit zur Ausbeute = 100 : 14,13.

In allen fünf Bestimmungen war nach der Abtrennung der Huminsubstanzen in dem Filtrate keine Reduction mehr nachzuweisen.

Bei der ersten Besprechung dieser Bestimmungen habe ich bereits erwähnt, dass durch 18stündiges Kochen das Maximum der Ausbeute an Huminsubstanzen zu erreichen ist, und dass der scheinbare Einfluss von noch längerem Kochen auf die Grösse der Ausbeute nur als ein Zufall betrachtet werden muss: die Ausbeute an Huminsubstanzen steht in einem constanten Verhältniss zur Reductionsfähigkeit des Harnes (ungefähr 1 : 7). In allen Fällen, wo die Reductionsfähigkeit des Harnes nach der von Flückiger angegebenen Methode bestimmt wurde, fand ich die Ausbeute an Huminsubstanzen um so bedeutender, je weniger 0,5procentige Traubenzuckerlösung zu der abgemessenen Harnmenge zugesetzt werden musste, um eine bestimmte Portion Fehling'scher Lösung genau zu reduciren.

Flückiger gibt an, dass eine Verminderung des Reductionsvermögens um $^1/_6$ des ursprünglichen zu constatiren ist, wenn der normale Harn bei 60° C. eingedampft wird, also bei einer Temperatur, welche ich ebenfalls benützte, um den Harn auf $^1/_6$ Volum einzuengen. Ich glaube aber kaum, dass diese Abnahme der Reductionsfähigkeit des Harnes eine

stanzen haben. Ich bin daher gezwungen anzunehmen, dass die Bildung von Huminsubstanzen im Harn beim anhaltenden Kochen mit Salzsäure hauptsächlich durch die Zersetzung der reducirenden Substanz bedingt ist.

Mit dieser Annahme scheint nur — wie schon erwähnt — die Thatsache nicht recht vereinbar, dass die aus dem Urin abgetrennten Huminsubstanzen einen beträchtlichen Stickstoffgehalt zeigten. Wenn es auch nach Flückiger[1]) nicht unwahrscheinlich ist, dass die reducirende Substanz des normalen Harns wenigstens zum grössten Theil eine mit einem stickstoffhaltigen Stoffwechselproduct verbundene Glycuronsäure darstellt, so muss man doch annehmen, dass dieses complexe Molecül unter der Einwirkung von Säure und Wärme zunächst gespalten wird, und dass nur der stickstofffreie Bestandtheil Huminsubstanzen liefert. Der Stickstoff kann also nur während der Bildung der Huminsubstanzen in das Molecül aufgenommen sein.

Es lag am nächsten, daran zu denken, dass es das beim Kochen des Harns mit Salzsäure sich bildende Ammoniak ist, welches in statu nascendi in die Huminverbindung eintritt und den Stickstoffgehalt desselben bedingt. Ich fand aber in der Literatur gar keine Angaben darüber, ob Huminsubstanzen mit Ammoniak solche Verbindungen einzugehen vermögen, in welchen der Stickstoff nicht nur lose angefügt ist, sondern in festerem Zusammenhange sich befindet, wie das von den aus dem Harn abgetrennten Huminsubstanzen wegen ihres Verhaltens gegen chemische Proceduren anzunehmen war.

Um über diese Frage in's Klare zu kommen, habe ich 20 gr. Traubenzucker und 5 gr. Harnstoff in 500 gr. Wasser gelöst, mit 10 Vol.-% Salzsäure 18 Stunden lang am Rückflusskühler gekocht. Ich gewann auf diese Weise eine bedeutende Quantität von Huminsubstanzen, welche dieselben physikalischen Eigenschaften, dasselbe Verhalten gegen Lösungs-

---

1) L. c, S. 350.

mittel zeigten, wie die aus dem Harn dargestellten. Nach wiederholtem Auflösen in Natronlauge, Fällen mit Schwefelsäure und Trocknen lieferten sie beim Erhitzen mit Natronkalk beträchtliche Mengen von Ammoniak. Die Elementaranalyse ergab folgende Werthe:

a) 0,2273 gr. lieferten 0,4804 gr. Kohlensäure, 0,0810 gr. Wasser und 0,0003 gr. Asche.

b) 0,5039 gr. lieferten 32 cbcm. Stickstoffgas, bei 756 mm. Luftdruck, 28,8° C. und 414 mm. Höhe der Wassersäule im Absorptionsrohr.

| | |
|---|---|
| C | 57,79 %, |
| H | 3,96 %, |
| N | 6,73 %. |

Es wurden dann auch die Zersetzungsproducte beim Schmelzen mit Aetzkali untersucht. Ich gewann durch diese Procedur: Ammoniak, Oxalsäure, Ameisensäure und höhere Fettsäuren, die weiter von einander nicht getrennt wurden, Protocatechusäure, Brenzcatechin und einen stickstofffreien Rest, welcher ebenfalls der Elementaranalyse unterworfen wurde.

0,1754 gr. lieferten 0,3988 gr. Kohlensäure, 0,0643 gr. Wasser und 0,0022 gr. Asche.

| | |
|---|---|
| C | 62,79 %, |
| H | 4,12 %. |

Nachdem es mir somit in der That gelungen war, aus einem Kohlehydrat, bei Gegenwart von Ammoniak im Entstehungszustande, stickstoffhaltige Huminsubstanzen darzustellen, wollte ich noch untersuchen, ob bei wechselnder Menge des Ammoniaks auch der Stickstoffgehalt der Huminsubstanzen ab- und zunimmt, oder ob die Schwankung desselben nur eine ganz zufällige ist.

Ich habe deshalb 20 gr. Traubenzucker und 20 gr. Harnstoff in 500 gr. Wasser gelöst, wieder mit 10 Vol.-% Salzsäure 18 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die Huminsubstanzen wurden in der bereits geschilderten Weise gereinigt und dann auf ihre procentische Zusammensetzung geprüft.

a) 0,2047 gr. lieferten 0,3992 gr. Kohlensäure, 0,0795 gr. Wasser und 0,0014 gr. Asche.

b) 0,4145 gr. lieferten 55 cbcm. Stickstoffgas, bei 753 mm. Luftdruck, 33° C. und 274 mm. Höhe der Wassersäule im Absorptionsrohr.

| | |
|---|---|
| C | 53,55 %, |
| H | 4,34 %, |
| N | 13,61 %. |

Aus der Vergleichung der Elementaranalyse dieser zwei verschiedenen, aus Traubenzucker und Harnstoff durch Synthese gewonnenen Präparate geht hervor, dass die Huminsubstanzen im Momente der Bildung nach der Quantität des gegenwärtigen Ammoniak verschiedene Mengen desselben aufzunehmen im Stande sind, und dass daher ihr Stickstoffgehalt als ein zufälliger, unwesentlicher betrachtet werden muss.

Wenn man die procentische Zusammensetzung der aus Traubenzucker und Harnstoff dargestellten Huminsubstanzen mit der der aus dem Harne gewonnenen vergleicht, so ergibt sich eine sehr deutliche Aehnlichkeit zwischen denselben. Dass sie einander wirklich nahe stehen, wird um so einleuchtender, wenn man von dem Stickstoffgehalte absieht; doch möchte ich diese tabellarische Zusammenstellung erst später folgen lassen.

Es soll vorher noch über die Untersuchungen berichtet werden, welche ich mit diabetischen Harnen ausgeführt habe, um — so zu sagen — ein Zwischenglied zwischen den aus Harnstoff und Traubenzucker dargestellten und den aus normalem Urin gewonnenen Huminsubstanzen zu finden. Der hierzu benützte Harn war eiweissfrei und stammte von einem Kranken her, bei welchem es sehr leicht gelang, durch animalische Kost den Zucker aus dem Urin verschwinden zu machen, und ebenso leicht, durch Darreichung von nur wenig Amylaceen die Zuckerausscheidung hervorzurufen.

Dieser Harn wurde ebenso behandelt wie der normale, nur war es nicht nothwendig, denselben am Rückflusskühler

so lange zu kochen, denn schon nach 10stündigem Erhitzen waren immer so bedeutende Mengen von Huminsubstanzen ausgeschieden, dass die ganze Flüssigkeit eine breiige Consistenz bekommen hatte.

I. Bestimmung.

3,45 Liter Harn, mit 4,4% Zuckergehalt, auf $^{1}/_{8}$ eingeengt, mit 10 Vol.-% Salzsäure 10 Stunden am Rückflusskühler gekocht, lieferten eine Ausbeute von 27 gr.

II. Bestimmung.

3 Liter Harn, mit 5,32% Zuckergehalt, auf $^{1}/_{8}$ eingeengt, mit 10 Vol.-% Salzsäure 12 Stunden am Rückflusskühler gekocht, lieferten eine Ausbeute von 31 gr.

III. Bestimmung.

2,5 Liter Harn, mit 5,13% Zuckergehalt, auf $^{1}/_{8}$ eingeengt, mit 10 Vol.-% Salzsäure 10 Stunden am Rückflusskühler gekocht, lieferten eine Ausbeute von 22 gr.

Leider fehlte es mir an Zeit, durch genauere Bestimmungen festzustellen, wie viel Säure man zusetzen und wie lange man kochen muss, um die grösste Menge von Huminsubstanzen aus diabetischem Harn zu gewinnen. Doch glaube ich, dass die Ausbeute noch wesentlich gesteigert werden kann, da aus reinem Traubenzucker viel bedeutendere Quantitäten von Huminsubstanzen sich gewinnen lassen.

Die ausgeschiedenen Huminsubstenzen wurden ebenso gereinigt, wie die aus dem normalen Urin dargestellten. Die Elementaranalyse ergab folgende Werthe:

a) 0,2408 gr. lieferten 0,4919 gr. Kohlensäure, 0,0920 gr. Wasser und 0,0002 gr. Asche.

b) 0,7529 gr. lieferten 66,8 cbcm. Stickstoffgas, bei 758 mm. Luftdruck, 21,2° C. und 152 mm. Höhe der Wassersäule im Absorptionsrohr.

C 55,75%,
H 4,25%,
N 9,96%.

Unter dem Einflusse des schmelzenden Kali erhielt ich aus der Substanz: Ammoniak, Oxalsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Valeriansäure, Brenzcatechin, Protocatechusäure und einen stickstofffreien Rückstand, welcher ebenfalls der Elementaranalyse unterworfen wurde.

0,2389 gr. gaben 0,5464 gr. Kohlensäure, 0,0787 gr. Wasser und 0,0025 gr. Asche.

C 63,03%,
H 3,69%.

Ohne irgend welche Schlüsse daraus ziehen zu wollen, möchte ich es blos als Thatsache aufführen, dass der Harn von demselben Kranken während der animalischen Kost eine geringere Reductionsfähigkeit zeigte, als der Harn gesunder Menschen. Ich hatte 900 cbcm. solchen Harnes von dem Diabetiker zur Verfügung. Er enthielt geringe Spuren von Aceton; Oxybuttersäure war in demselben nicht nachzuweisen. 20 cbcm. dieses Harnes, 80 cbcm. $H_2O$ und 20 cbcm. Fehling'scher Lösung erforderten den Zusatz von 15 cbcm. 0,5procentiger Traubenzuckerlösung, damit die Reduction des Kupferoxyds vollständig stattfand. Das Reductionsvermögen war also ein so grosses, wie das einer 0,125procentigen Traubenzuckerlösung. 800 cbcm. desselben Harnes, auf $^1/_4$ eingeengt, mit 10 Vol.-% Salzsäure 18 Stunden am Rückflusskühler gekocht, lieferten 0,1378 gr. Huminsubstanzen, also 0,0172%.

---

Die Vergleichung der bisher aufgeführten Elementaranalysen lässt recht klar erkennen, dass die stickstofffreien Schmelzrückstände:

der Huminsubstanzen aus normalem Harn, mit 62,26% Kohlenstoff, 3,9% Wasserstoff,

der Huminsubstanzen aus diabetischem Harn, mit 63,03% Kohlenstoff, 3,69% Wasserstoff,

der Huminsubstanzen aus Traubenzucker und Harnstoff, mit 62,79% Kohlenstoff und 4,12% Wasserstoff

in ihrer Zusammensetzung einander nahe stehen.

Dasselbe gilt auch für die Huminsubstanzen selbst:

| | C: | H: | N: |
|---|---|---|---|
| Humins. aus normalem Urin, I. Präp.. . . | 55,31 % | 4,38 % | 10,29 %. |
| Humins. aus normalem Urin, II. Präp. . . | 56,32 » | 4,16 » | 8,44 » |
| Humins. aus diabetischem Harn. . . . . | 55,75 » | 4,25 » | 9,96 » |
| Humins. aus Traubenzucker und Harnstoff, I. Präp. . . . . . . . . . . . . | 57,79 » | 3,96 » | 6,73 » |
| Humins. aus Traubenzucker und Harnstoff, II. Präp.. . . . . . . . . . . . | 53,55 » | 4,34 » | 13,61 » |

Ich glaube weiter oben bewiesen zu haben, dass der Stickstoffgehalt der von mir untersuchten Huminsubstanzen keine wesentliche Bedeutung beanspruchen darf; es ist vielmehr anzunehmen, dass er aus Zersetzungsproducten stickstoffhaltiger Körper, deren Beimengung inconstant ist, hervorgeht. Könnte man aus dem Harn den Stickstoff vollkommen entfernen, ohne die reducirende Substanz zu zerstören, so liessen sich aus derselben wahrscheinlich stickstofffreie Huminsubstanzen gewinnen.

In welcher Form der Stickstoff in ihnen enthalten ist, mag dahingestellt bleiben; um den Vergleich der einzelnen Huminsubstanzen möglich zu machen, habe ich angenommen, dass er in allen als Amid ($NH_2$) enthalten ist. Bei der Umrechnung der Procentzahlen brachte ich also für den Stickstoff auch das entsprechende Aequivalent Wasserstoff in Abzug.

Die berechneten stickstofffreien Reste gestalten sich folgendermassen:

| | C: | H: |
|---|---|---|
| Für die Humins. aus normalem Harn, I. Präp. . . | 62,16 % | 4,10 %. |
| Für die Humins. aus normalem Harn, II. Präp. . . | 61,91 » | 3,91 » |
| Für die Humins. aus diabetischem Harn . . . . | 62,40 » | 3,96 » |
| Für die Humins. aus Traubenzucker und Harnstoff, I. Präp. . . . . . . . . . . . . . . . | 62,28 » | 3,74 » |
| Für die Humins. aus Traubenzucker und Harnstoff, II. Präp. . . . . . . . . . . . . . . . | 62,67 » | 3,94 » |

Aus dieser Zusammenstellung ist ersichtlich, dass: die aus normalem Harn, aus diabetischem Harn, sowie aus Traubenzucker und Harnstoff durch eine und dieselbe Methode dargestellten Humin-

substanzen die gleichen, oder wenigstens einander nahestehende Körper oder Gruppen zusammengehöriger Substanzen sind.

---

Um einen weiteren Stützpunkt für die Ansicht zu gewinnen, dass beim Behandeln des Harns mit Mineralsäuren Kohlehydrate zerfallen, untersuchte ich, ob sich neben den Huminsubstanzen noch andere characteristische Spaltungsproducte der Zuckerarten nachweisen liessen.

Mulder[1]) hat bei der Einwirkung von Mineralsäuren auf Zucker, neben den Huminsubstanzen, Ameisensäure und noch zwei andere Säuren gefunden, von welchen er die eine mit der Glucinsäure von Péligot identificirte, die zweite Apoglucinsäure nannte.

Als Tollens[2]) die Mulder'schen Untersuchungen wiederholte, erhielt er beim Kochen des Rohrzuckers mit Schwefelsäure neben Ameisensäure eine neue Säure, die Lävulinsäure. Conrad[3]) wies später nach, dass die Lävulinsäure identisch ist mit der β-Acetylpropionsäure. Seitdem ist diese Säure bei der Zersetzung von sehr vielen Kohlehydraten gefunden worden.

Thierfelder[4]) erhielt beim Kochen der Glycuronsäure mit Salzsäure einen Körper mit den Eigenschaften einer Säure, welcher mit der Formel $C_5H_6O_3$ gut stimmende Werthe bei der Elementaranalyse ergab. Sie steht offenbar der Lävulinsäure nahe.

Es war mir also darum zu thun, zu untersuchen, ob im mit Säuren gekochten Harn ausser den Huminsubstanzen auch Lävulinsäure oder eine ihr nahestehende Verbindung auftrete.

Zu diesem Zwecke habe ich den von den Huminsubstanzen abfiltrirten Harn mit dem Waschwasser vereinigt,

1) L. c.
2) L. c.
3) Berichte d. d. chem. Gesellsch., Bd. XI, S. 2177.
4) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XI, S. 388.

die Säure darin mit kohlensaurem Kalk bis zur ganz schwach sauren Reaction abgestumpft und dann mit grossen Portionen Aether ausgeschüttelt. Der Rückstand des Aetherauszuges wurde mit wasserfreiem Aether aufgenommen; er bildete nach dem Abdestilliren eine breiige krystallinische Masse, doch erwies sich bald, dass in der Hauptsache Benzoësäure vorlag. Nach Abtrennung derselben mit Hülfe von Petroläther blieb eine honiggelbe syrupöse Masse zurück, welche selbst nach 3 Wochen unter der Luftpumpe nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Sie wurde dann mit Kalkwasser und Kohlensäure behandelt, der kohlensaure Kalk abgetrennt, die Lösung erwärmt, filtrirt, dann etwas eingeengt und über Schwefelsäure im Exsiccator stehen gelassen. Nach Verdunsten des Wassers blieb eine gelbe, undeutlich krystallinische Masse zurück. Da ich aber aus 10 Liter Harn nicht mehr als 0,05 gr. dieses zweifelhaften Kalksalzes gewinnen konnte, so musste ich — vorläufig wenigstens — von der weiteren Bearbeitung absehen.

Späteren Untersuchungen muss es vorbehalten bleiben, zu entscheiden, ob bei der Zersetzung des Harns durch Mineralsäuren wirklich Lävulinsäure, oder irgend eine ihr nahestehende Säure entsteht.

---

Wenn nun die Ergebnisse meiner Untersuchungen zusammengefasst werden, so glaube ich, folgende Schlüsse ziehen zu dürfen:

1. In Harnen, welche mit Mineralsäuren gekocht werden, tritt mit der Dunkelfärbung derselben eine Ausscheidung von Huminsubstanzen auf.

3. Diese Huminsubstanzen entstehen durch die Zersetzung der reducirenden Substanz des normalen Urins, und ihre Quantität steht in constantem Verhältniss zu dem Reductionsvermögen des Harns.

3. Durch wenigstens 18stündiges Kochen des Harns mit Salzsäure ist es möglich, die Humin-

substanzen vollkommen zur Ausscheidung zu bringen. In diesem Falle verliert der Harn seine Reductionsfähigkeit.

4. Die Indoxylverbindungen haben wahrscheinlich einen nur sehr geringen Einfluss auf die Bildung dieser Huminsubstanzen.

5. Aus Kohlehydraten können bei Gegenwart von Ammoniak in statu nascendi stickstoffhaltige Huminsubstanzen entstehen.

---

Thudichum spricht sich in seiner bereits citirten Arbeit[1]) in folgender Weise aus: «To my mind there is no longer any doubt, that Proust's fallow resin, Scharling's omichmyl-oxyde, Heller's urrhodine or indigored, Schunck's indirubine or indigored from urine, Scherer's colouring matter of urine as subjected by him to elementary analysis, Harley's urohematine, and Marcet's immediate principle, are differend expressions for one and the same mixture of substances, — namely, of some of the products of decomposition by acids or ferments, under the influence of air, time or heat, of a yellow colouring matter contained in the urine.»

Diesen Satz kann ich nach meinen Untersuchungen theilweise auch unterschreiben. Ich gtaube, dass es kaum einem Zweifel unterliegt, dass alle diejenigen Farbstoffe, welche man bisher aus normalem Urin durch Säuren, Erhitzen und Oxydation gewann, abgesehen von den Indigoverbindungen und dem Urobilin, unvollständig ausgebildete oder durch Beimengung fremder Stoffe verunreinigte Huminsubstanzen waren. Ich glaube ferner auch, dass Thudichum's Uropittin, Uromelanin und Omicholsäure ebenso aufzufassen sind. Dahin gehören auch Heller's Urophaein und noch andere, aus dem Harn mit Mineralsäuren dargestellte gefärbte Substanzen. Damit werden natürlich alle Bestrebungen hinfällig, aus

1) D. c., S. 512.

Reactionen, welche auf Einwirkung von Mineralsäuren auf den Harn beruhen, diagnostische Schlüsse ziehen zu wollen.

Ob aber diese aus dem Harn darstellbaren braunen Substanzen von einem gelben Farbstoff, dem supponirten normalen Harnfarbstoff, abzuleiten sind — wie das auch Thudichum annimmt —, dürfte erst dann entschieden werden können, wenn es einmal gelungen ist, die reducirende Substanz des Harns zu isoliren, welche nach meinen Untersuchungen die Muttersubstanz der braunen Huminverbindungen darstellt. Es scheint mir nicht zweifelhaft, dass diese sich als farbloser Körper herausstellen wird. Wodurch ist dann nun aber die gelbe Farbe des frischen Harnes bedingt? Wenn es mir erlaubt ist, eine Vermuthung, welche immerhin einen gewissen Grad von Wahrscheinlichkeit beanspruchen dürfte, auszusprechen, so glaube ich, dass die Umwandlung der Kohlehydrate in Huminsubstanzen bereits innerhalb des Körpers beginnt und somit zur gelben Färbung des frisch gelassenen Harnes beiträgt.

Jedenfalls geht aus den mitgetheilten Untersuchungen hervor, dass es nicht nothwendig ist, für die Farbenveränderung des normalen Urins, welche sich unter der Einwirkung von Säuren und in der Wärme vollzieht, ausser den Indoxylverbindungen und dem eventuell ebenfalls gegenwärtigen Hydrobilirubin, noch einen weiteren besonderen Harnfarbstoff — etwa ein Urochrom — anzunehmen und verantwortlich zu machen. Es gelingt nicht in jedem frisch gelassenen Harn, Urobilin nachzuweisen; ganz besonders wären also in derartigen Fällen die Huminsubstanzen als färbendes Princip des Harns mit grosser Wahrscheinlichkeit anzunehmen.

---

## II.

Im Anschluss an diese Arbeiten soll noch über die Untersuchungen berichtet werden, welche den Zweck hatten, zu ermitteln, ob nicht vielleicht auch gewisse, in manchen frisch gelassenen Harnen schon bemerkbare, oft recht intensive Dunkelfärbungen mit den Huminsubstanzen in Zusam-

menhang zu bringen wären, ob also nicht vielleicht einige Nahrungs- oder Arzneimittel die Fähigkeit besässen, nach ihrer Einverleibung in den thierischen Organismus die Bildung von Huminsubstanzen bereits innerhalb des Körpers, und den Uebergang derselben dann in den Urin hervorzurufen.

Es lag am nächsten, den Pflanzenfresserharn in Bearbeitung zu nehmen, welcher — wie bekannt — in jüngstem Alter der Thiere, wo diese sich noch von der Muttermilch ernähren, eine hellgelbe Farbe besitzt. Der Harn bekommt aber sogleich von dem Zeitpunkte an eine dunkle Färbung, wo die Pflanzenfresser anfangen, zu ihrer Ernährung pflanzliche Stoffe, insbesondere aber Gras oder Heu zu sich zu nehmen.

Ebenso ist es bekannt, dass das Blutserum dieser Thiere auch eine eigene bräunliche Färbung zeigt, wie es sich beim Pferdeblut mit Leichtigkeit constatiren lässt; wenn es allerdings von grossem Interesse gewesen wäre, den Nachweis zu liefern, ob dieser bereits im Blute bemerkbare Farbstoff als identisch betrachtet werden könnte mit dem, welcher dem Harne die characteristische Farbe verleiht, so musste ich mich doch vorläufig darauf beschränken — ohne Rücksicht auf ihre Genese —, die färbende Substanz des Urins zu isoliren und ihre chemische Beschaffenheit festzustellen.

Mancher Vortheile halber, welche der Pferdeharn bietet, benützte ich diesen zu meinen Untersuchungen. Da es daran gelegen war, den Farbstoff womöglich in der Form abzutrennen, in welcher er im Harne enthalten ist, so konnten alle, sonst vielleicht leichter ausführbare Methoden nicht in Betracht kommen, bei welchen eine Zersetzung kaum zu vermeiden ist oder bei welchen auf die Weise, wie es vom Menschenharn beschrieben wurde, Huminsubstanzen sich bilden können, wodurch dann die richtige Beurtheilung der Frage schwieriger wird.

Zur Entfärbung des Urins, respective zur Abtrennung des Farbstoffes aus demselben wurde zuerst eine concentrirte Lösung von Zinnchlorür benützt, und es gelang auch in der That, die Entfärbung in einem Maasse durchzuführen, wie

es mit anderen Mitteln kaum zu erreichen sein dürfte. Diese Manipulation hatte aber einen sehr grossen Nachtheil: es wollte nämlich durchaus nicht gelingen, das Zinnsalz von dem Farbstoffe zu trennen, ohne dabei wesentliche Verluste an dem letzteren zu erfahren.

Es wurde schliesslich folgendes Verfahren eingeschlagen: Der mit Essigsäure schwach angesäuerte Harn wurde mit neutralem Bleiacetat bis zur völligen Sättigung behandelt. Die Bleiniederschläge wurden am Filter mit kaltem und warmem Wasser gewaschen, dann mit einer concentrirten Natriumcarbonatlösung zerrieben, wobei der Farbstoff in Lösung überging. Diese dunkelbraune Lösung säuerte ich dann mit Essigsäure an und schüttelte sie zur Entfernung der eventuell im Harne vorhandenen und von dem Bleiacetat mitgerissenen Protocatechusäure mit grossen Portionen Aether aus, trennte denselben im Scheidetrichter ab. Die Farbstofflösung wurde dann mit Ammoniak alkalisch gemacht und mit Calciumchlorid bei möglichstem Luftabschluss gefällt. Den entstandenen voluminösen Niederschlag wusch ich am Filter mit ausgekochtem Wasser, mit Alkohol und Aether aus und trocknete ihn über Schwefelsäure im Exsiccator.

Ich befolgte darum dieses etwas langwierige und complicirte Verfahren, weil es nicht gut gelingen wollte, nach der Entbleiung mit Natriumcarbonat den Farbstoff aus der Lösung mit Säure zu fällen. Dies war nur dann möglich, wenn die Flüssigkeit zur schnelleren Entfernung der Kohlensäure am Wasserbade zugleich gekocht wurde.

Der mit Calciumchlorid in der ammoniakalischen Lösung des Farbstoffes gewonnene Niederschlag bildete ein äusserst feines, braunes Pulver, welches in kaltem Wasser, Alkohol, Aether und Ammoniak unlöslich war, sich auch in warmem Wasser und in verdünnten Säuren nur sehr schwer löste. Concentrirte Säuren, besonders concentrirte Salzsäure, lösten es mit Leichtigkeit auf.

Die concentrirten sauren Lösungen zeigten nach einiger Zeit insoferne eine Veränderung, als sich aus denselben

schwarze Flocken ausschieden, welche in Natronlauge löslich und aus derselben mit Schwefelsäure fällbar waren.

Der Kalkniederschlag (oder vielleicht das Kalksalz) des Farbstoffes lieferte beim Erhitzen mit Natronkalk Ammoniak.

Ich wollte mich zunächst davon überzeugen, ob dieser in dem Kalkniederschlage enthaltene Farbstoff dasjenige, nach den oben citirten Untersuchungen des Herrn Prof. Hoppe-Seyler, für die Huminsubstanzen characteristische Verhalten unter dem Einflusse des schmelzenden Kali zeigt, welches für die gefärbten Substanzen aus dem menschlichen Urin nachzuweisen war.

Nachdem das Schmelzen mit Aetzkali in der angegebenen Weise ausgeführt wurde, konnte ich folgende Zersetzungsproducte constatiren: Ammnniak (in geringer Menge), Oxalsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, und eine höhere Fettsäure oder ein Gemisch höherer Fettsäuren, dessen Baryumsalz den Ba-Gehalt von 23,7 % zeigte, Brenzcatechin, Protocatechusäure (in grosser Menge und schön krystallisirt). Es blieb auch wieder ein braunschwarzer in Natronlauge löslicher, aus derselben mit Schwefelsäure fällbarer Rückstand zurück, welcher der Elementaranalyse unterworfen wurde.

I. 0,1647 gr. gaben 0,0027 gr. Asche, 0,3982 gr. Kohlensäure und 0,0740 gr. Wasser.

II. 0 1945 gr. gaben 0,0033 gr. Asche, 0,4682 gr. Kohlensäure und 0,0892 gr. Wasser.

| | I. | II. | Mittel. |
|---|---|---|---|
| C | 67,03 % | 66,77 % | 66,9 %. |
| H | 5,07 » | 5,18 » | 5,12 » |

Nach dem, was an früherer Stelle über die Bedeutung der Bildung von Protocatechusäure beim Schmelzen der Huminsubstanzen mit Aetzkali gesagt wurde, konnte es keinem Zweifel unterliegen, dass wir es hier auch mit Huminsubstanzen zu thun hatten.

Sehr auffällig ist der hohe Kohlenstoffgehalt des Schmelzrückstandes. Da aber unsere Kenntnisse über die Huminsubstanzen noch vieles unerklärt lassen, so muss ich vorläufig

einfach die Thatsache anführen, ohne ihr irgend welche Bedeutung zusprechen zu wollen.

Wenn es auch fraglich war, ob der Kalkniederschlag aus der ammoniakalischen Lösung des Farbstoffes eine wirkliche Kalkverbindung des Letzteren darstellt, so schien es doch von Interesse zu sein, die procentische Zusammensetzung zu ermitteln.

Es stellte sich bei der Aschenbestimmung heraus, dass die Substanz ausser dem Calcium auch noch Eisen enthält. Zur quantitativen Bestimmung dieser zwei Elemente nebeneinander wurde dann in folgender Weise verfahren: Die Substanz wurde zuerst über freier Flamme, dann am Gebläse stark geglüht, der Rückstand in Salzsäure gelöst, die salzsaure Lösung mit Ammoniak alkalisch gemacht und dann mit frisch bereitetem Ammoniumsulfid behandelt. Das entstandene Schwefeleisen sammelte ich auf einem aschefreien Filter, wusch es mit warmem Wasser aus, löste es in concentrirter Salzsäure auf und spülte das Filter mit concentrirter Salpetersäure und heissem Wasser nach. Diese Lösung wurde am Wasserbade so weit eingedampft, bis eine deutliche Gelbfärbung eintrat. Nach dem Erkalten wurde dann die Lösung mit Ammoniak übersättigt, das Eisenoxydulhydrat auf ein aschefreies Filter gebracht, getrocknet, geglüht und als Eisenoxyd gewogen.

Die von dem Schwefeleisen abfiltrirte ammoniakalische Lösung, welche das Calcium enthielt, habe ich am Wasserbade zur Verjagung des Schwefelwasserstoff eine Stunde digerirt, dann mit oxalsaurem Ammoniak behandelt und 12 Stunden stehen gelassen. Der Niederschlag wurde dann auf ein aschefreies Filter gebracht, getrocknet, am Gebläse heftig geglüht und als Calciumoxyd gewogen.

Bei der Kohlen- und Wasserstoffbestimmung war ich wegen der schweren Verbrennbarkeit der Substanz genöthigt, dieselbe im Platinschiffchen mit einer abgewogenen Menge vorher sorgfältigst ausgeglühten Kupferoxyds zu vermischen, nach der Verbrennung das Schiffchen mit der Asche + Kupfer-

oxyd zu wägen, dann am Gebläse heftig zu glühen, wieder zu wägen und die Gewichtsdifferenz — als Kohlensäure — zur Gewichtsvermehrung in dem Liebig'schen Kalikugelapparat zuzuschlagen.

Ich gewann bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

I. 0,2508 gr. Substanz lieferten 0,1586 gr. Kohlensäure und 0,0260 gr. Wasser.

II. 0,6716 gr. Substanz lieferten 9,6 cbcm. Stickstoffgas bei 749 mm. Luftdruck, 17° C. und 800 mm. Höhe der Wassersäule im Absorptionsrohr.

III. 0,3052 gr. Substanz lieferten 0,0046 gr. Eisenoxyd und 0,1218 gr. Calciumoxyd.

IV. 0,9834 gr. Substanz lieferten 0,0138 gr. Eisenoxyd und 0,3965 gr Calciumoxyd.

| | I. | II. | III. | IV. |
|---|---|---|---|---|
| C | 17,25 % | — % | — % | — %. |
| H | 1,15 » | — » | — » | — » |
| N | — » | 1,62 » | — » | — » |
| Fe | — » | — » | 1,24 » | 1,16 » |
| Ca | — » | — » | 28,51 » | 28,80 » |

Da anzunehmen ist, dass bei der Fällung der ammoniakalischen Lösung mit Calciumchlorid die Bildung von kohlensaurem Kalk stattfinden kann und so in der Substanz eine gewisse Menge von Calcium an Kohlensäure gebunden enthalten sein mag, wollte ich mir über diese Verhältnisse durch eine Kohlensänrebestimmung Aufklärung verschaffen. Zu diesem Zwecke stellte ich mir einen kleinen, modificirten Will-Fresenius'schen Apparat zusammen.

1,9213 gr. Substanz zeigten nach der Einwirkung der Salzsäure einen Gewichtsverlust von 0,4178 gr. Die Substanz enthielt also 21,75 % an Calcium gebundene Kohlensäure. Um also den kohlensauren Kalk aus der Kalkverbindung des Farbstoffes zu eliminiren, muss man von den bei der Elementaranalyse gewonnenen Zahlen

5,93 % Koslenstoff,
23,72 » Sauerstoff und
19,79 » Calcium

in Abzug bringen.

Ebenso glaube ich den Eisengehalt als Verunreinigung, welche aus den eisernen Gefässen, in denen der Harn gesammelt wurde, sowie aus Staubpartikelchen der Luft stammt, ansehen zu können. Zieht man also die entsprechenden Procentzahlen für den $CaCO_3$ und das Fe (als $Fe_2O_3$) von den bei der Elementaranalyse gewonnenen Werthen ab, so gestalten sich die letzeren in folgender Weise:

| | |
|---|---|
| Kohlenstoff | 22,57 %. |
| Wasserstoff | 2,29 » |
| Stickstoff | 3,23 » |
| Sauerstoff | 54,23 » |
| Calcium | 17,66 » |

Im Allgemeinen will ich aber auf die bei der Elementaranalyse gewonnenen Zahlen kein besonderes Gewicht legen. Es fehlte mir leider an Zeit, zur Controlle noch weitere Bestimmungen zu machen, und so möchte ich als Resultat dieser Untersuchungen nur das hervorheben, dass es gelungen ist, aus dem Pferdeharn den braunen Farbstoff abzutrennen und seine Zugehörigkeit zu den Huminsubstanzen im obigen Sinn festzustellen.

Die Frage, woher diese Huminsubstanzen im Pferdeharne stammen, kann vor der Hand mit Sicherheit nicht beantwortet werden. Die Untersuchungen über den menschlichen Urin legen die Vermuthung nahe, dass ihre Entstehung vielleicht in analoger Weise erklärt werden könnte, wie es für die Huminsubstanzen im Menschenharn geschah. Ihre bedeutende Menge im Pferdeharn, sowie der Umstand, dass die dunkle Farbe des Harns erfahrungsgemäss mit der Heufütterung im Zusammenhange steht, machen es sehr wahrscheinlich, dass hier auch noch andere Factoren in Betracht gezogen werden müssen.

Es ist kaum zu bezweifeln, dass im Gras oder im Heu Stoffe enthalten sind, welche im Organismus zur Bildung von Huminsubstanzen Anlass geben können. Dies wird zwar erst dann sicher zu stellen sein, wenn solche Substanzen aus den Pflanzen gewonnen werden und ihr Einfluss auf die Farbe des Urins direct nachgewiesen wird; ich glaube aber doch

nach dem Gesagten schon jetzt die Meinung aussprechen zu dürfen: dass die dunkle Farbe des Pferdeharns mit der Nahrung der Thiere zusammenhängt. Mit Sicherheit kann behauptet werden, dass diese Färbung durch Huminsubstanzen bedingt ist.

---

Den Aerzten ist die Thatsache schon lange bekannt, dass bei Behandlung der Kranken mit gewissen Arzneimitteln die Farbe des Urins eine Veränderung erleidet. Einige von diesen Farbstoffen, welche im Urin erscheinen, sind schon in der Arznei enthalten; bei anderen dagegen sind es wahrscheinlich Zersetzungsproducte, welche den Harn characteristisch färben.

Ich wollte zunächst den Einfluss einiger aromatischen Körper auf die Farbe des Harns prüfen, und zwar in erster Linie die des Phenols, von welchem es besonders seit der Einführung der antiseptischen Wundbehandlung allgemeiner bekannt ist[1]), dass der Harn der mit ihm behandelten Kranken eine mehr oder weniger grünlichbraune, selbst schwärzliche Färbung zeigt, welche in den meisten Fällen um so ausgeprägter wird, je länger der Harn an der Luft steht.

Man hat die dunkle Farbe des Carbolharnes in sehr verschiedener Weise zu erklären versucht.

Wallace[2]) meinte, dass die dunkle Farbe des Harns von Blutfarbstoff herrühre, welcher durch die Zersetzung des Blutes unter dem Einflusse des Phenols gelöst werde. Diese Behauptung wurde sehr bald widerlegt, da in der weit grössten Zahl von Carbolharnen sich Blut spectroscopisch wie chemisch nicht nachweisen liess.

Später nahm man an, und Bill[3]) war es, welcher diese Vermuthung zuerst aussprach, dass das Phenol im Thierkörper

---

[1]) Hebra hat schon früher nach Theerbehandlung eine Dunkelfärbung des Urins beobachtet und dieselbe auf den Phenolgehalt des Theers zurückgeführt.

[2]) Brit. Med. Journ., 1870, 30. April.

[3]) American Journal of med. Science, 1870, S. 573.

zu Chinon oxydirt wird und diese Oxydation die dunkle Farbe des Harns bedingt. Andere Forscher meinten im Allgemeinen, dass dieser Farbstoff im Carbolharn, dessen Isolirung nicht gelang, aus unbekannten Oxydationsproducten des Phenols abstammte.

Es war besonders Salkowski[1]), welcher betonte, dass die dunkle Färbung des Carbolharnes kaum zu der Menge des in den Organismus eingeführten Phenols im Verhältniss stehe, und dass es falsch sei, eine Carbolvergiftung dann anzunehmen, wenn der Harn recht dunkel geworden ist. In dieser Beziehung können nur die allgemeinen Intoxicationserscheinungen von Geltung sein.

Baumann und Preusse[2]) fanden, dass sich aus Phenolharn Hydrochinon darstellen lässt; sie constatirten ferner, dass bei normalen Harnen, welche mit Hydrochinon versetzt wurden, nach einiger Zeit, von der Oberfläche aus in die tiefer gelegenen Schichten fortschreitend, eine ähnliche Färbung sich einstellt, wie sie der Carbolharn zeigt. Sie gaben dann Hunden Hydrochinon per os ein, und der Harn wurde ebenfalls dunkel gefärbt, wie bei der Phenolbehandlung. Baumann und Preusse sprachen dann die Meinung aus, dass ein kleiner Theil des Phenols im Thierkörper in Hydrochinon übergeführt wird, und dieses zwar zum grössten Theil als Aetherschwefelsäureverbindung im Harn erscheint, ein kleiner Theil aber zu gefärbten Producten weiter oxydirt wird, welche dem Harne die eigenthümliche Färbung verleihen.

Andere Untersuchungen brachten es zu Tage, dass ausser dem Phenol und Hydrochinon auch noch weitere aromatische Verbindungen im Stande sind, nach ihrer Einverleibung in den Organismus eine ähnliche dunkle Färbung des Urins hervorzurufen. Es schien darum schon a priori sehr wahrscheinlich, dass die Ursache der Färbung in allen Fällen dieselbe, oder wenigstens eine ähnliche ist.

---

1) Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. V, S. 354.
2) Arch. f. Anat. u. Physiol., 1879, S. 245.

Ich habe zunächst die Versuche mit Phenol wiederholt. Einem mittelgrossen Hunde wurde in je 48 Stunden einmal in einer handtellergrossen Fläche Phenol auf die Haut mit einem Pinsel aufgetragen. Dies genügte, dass der Harn constant die dunkle Färbung zeigte, welche gewöhnlich nach einigen Stunden an der Luft beinahe in Schwarz überging.

Die Hunde vertragen das Einpinseln mit Phenol recht gut. Die innere Darreichung von Phenol in genügender Quantität ist bekanntlich mit manchen Schwierigkeiten verbunden; es sprechen ausserdem andere Erfahrungen ebenfalls dafür, dass die Dunkelfärbung des Harns nach äusserer Anwendung des Phenols am schnellsten zu Stande kommt.

Von dem mit Phenol behandelten Hunde wurde der Harn durch 3 Wochen gesammelt. Zur Abtrennung des Farbstoffes erwies sich folgendes Verfahren als am ehesten zum Ziele führend:

Der filtrirte Harn wurde mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht und dann mit Calciumchlorid gefällt. Auf diese Weise gelang es, den Harn recht gut zu entfärben. Den noch in Lösung gebliebenen Theil des Farbstoffes gewann ich, indem nach nochmaligem Zusatz von Ammoniak und Calciumchlorid das überschüssige Calcium durch Kohlensäure gefällt wurde. Den dabei erhaltenen Niederschlag vereinigte ich mit dem vorigen, wusch ihn mit kaltem und warmem Wasser, mit Alkohol und Aether aus und löste ihn nachher in Salzsäure auf. Die salzsaure Lösung wurde dann mit Ammoniak alkalisch gemacht. Das Ammoniak nahm aber nur einen geringen Theil des Farbstoffes in sich auf, ein recht beträchtlicher Theil wurde von dem voluminösen Niederschlage zurückgehalten. Durch fleissiges Schütteln desselben mit einer kaltgesättigten Ammoniumcarbonatlösung gelang es aber, den Farbstoff daraus bis auf Spuren zu gewinnen. Die vereinigten Lösungen wurden dann bei 60° C. etwas eingeengt und nachher mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuert. Der Farbstoff fiel in zarten braunen Flocken aus; diese wurden am Filter mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen, dann in Natronlauge gelöst, aus der-

selben mit Schwefelsäure gefällt, wieder ausgewaschen und nachher über Schwefelsäure im Exsiccator getrocknet.

Die so dargestellte Substanz bildete schwarze Blättchen, welche sich recht leicht pulverisiren liessen. Beim Erhitzen derselben mit Natronkalk war kein Ammoniak nachzuweisen.

Aus dem gesammten Harne des 3 Wochen lang mit Phenol behandelten Hundes konnten nicht mehr als 0,5740 gr. Substanz dargestellt werden. Ich musste demnach verzichten, die Substanz der Elementaranalyse zu unterwerfen, und beschränkte mich bloss darauf, das Schmelzen mit Aetzkali auszuführen.

Dieses Verfahren führte zu folgenden Zersetzungsproducten: Oxalsäure, fetten Säuren, welche weiter von einander nicht getrennt wurden, Brenzcatechin, Protocatechusäure und einem braunen, in Alkalien löslichen, aus denselben mit Säuren fällbaren Schmelzrückstand.

Es muss demnach nach den oben mitgetheilten Untersuchungen des Herrn Prof. Hoppe-Seyler angenommen werden, dass dieser aus dem Phenolharn gewonnene Farbstoff ebenfalls zu den Huminsubstanzen zu zählen ist, mit anderen Worten, dass die dunkle Farbe des Phenolharnes von Huminsubstanzen abhängt.

Zur Entscheidung darüber, ob andere aromatische Verbindungen eine gleiche Wirkung haben können, stellte ich noch zwei parallele Versuchsreihen mit Brenzcatechin und Hydrochinon an.

Diese Körper wurden, in wenig Wasser gelöst, mittelst der Schlundsonde den Thieren eingegeben, und zwar vom Hydrochinon 0,5 gr., vom Brenzcatechin 1,0 gr. jeden zweiten Tag. Der Harn beider Hunde zeigte dieselbe Färbung, wie der Phenolharn.

Ausserdem setzte ich zu normalem Harn Hydrochinon zu und liess ihn einige Stunden an der Luft stehen. Erst wenn die Verdunkelung eingetreten war, wurde der Harn zur weiteren Bearbeitung benützt.

Ich trennte den Farbstoff aus allen drei Harnportionen in ähnlicher Weise ab, wie es mit dem Phenolharn geschah.

Die Substanzen, welche mit Natronkalk erhitzt, ebenfalls kein Ammoniak lieferten, wurden dann jede für sich mit Aetzkali geschmolzen. In allen drei Fällen war die Bildung von Protocatechusäure nachweisbar, und somit die Zugehörigkeit auch dieser Farbstoffe zu den Huminsubstanzen im obigen Sinne ermittelt.

Der Umstand, dass Lösungen von Phenol und von anderen Benzolderivaten sich an der Luft braun färben und Huminsubstanzen liefern, legt die Annahme nahe, dass diese Körper auch im Urin in einer Form erscheinen, welche die Entstehung von Huminsubstanzen zulässt. Ich glaube auch kaum, dass die Farbstoffe im Phenol-, Hydrochinon- und Brenzcatechinharn wesentlich von einander verschieden sind. Sie sind alle als Huminsubstanzen aufzufassen. Das Fehlen des Stickstoffes in denselben macht es wahrscheinlich, dass ihre Bildung in dem unzersetzten Harne leicht erfolgt und nicht so bedeutender Eingriffe bedarf, dass dabei stickstoffhaltige Harnbestandtheile zerlegt werden müssten. Die Beobachtung, dass Phenolharne sich an der Luft immer intensiver färben, stimmt auch mit den Verhältnissen überein, welche im Allgemeinen auf die Bildung von Huminsubstanzen Einfluss haben.

---

Der Beschreibung dieser Versuche möchte ich noch zwei kleine Bemerkungen hinzufügen. Masing[1]) hat Thieren Brenzcatechinlösungen in den meisten Versuchen subcutan oder intravenös beigebracht und fand schon nach relativ geringen Dosen heftige Vergiftungserscheinungen, besonders bei Kaltblütern. Bei Säugethieren war aber die Wirkung des Brenzcatechin ebenfalls eine recht prompte und schnelle. Da er bei Hunden mit der innerlichen Darreichung von Brenzcatechin nicht experimentirt hat, so kann ich natürlich keine Parallele zu meinen Versuchen ziehen. Ich möchte nur

[1]) Masing, Ein Beitrag zur Kenntniss der antiseptischen und physiologischen Eigenschaften des Brenzcatechin. Inaugural-Dissertation. Dorpat, 1882.

das betonen, wie verschieden sich auch die Säugethiere gegen die innere Verabreichung von Brenzcatechin verhalten.

Während Masing einen Kater von 4200 gr. Körpergewicht zu tödten im Stande war, wenn er demselben 0,30 gr. Brenzcatechin per os einführte, — so zeigte bei meinen Versuchen ein mittelgrosser Hund, welcher jeden zweiten Tag 1,0 gr. Brenzcatechin bekam, selbst nach zwei Wochen gar keine Vergiftungserscheinungen. Ich gab dann versuchsweise einem grossen, 35 Kilo schweren Hunde 2,0 gr. Brenzcatechin pro dosi ein und konnte ebenfalls keine Störung in den Functionsverrichtungen des Thieres beobachten.

Das einzige Symptom bei allen diesen Thieren war die dunkle Farbe des Harns. Das Auftreten von blutigem Urin, welches Masing beobachtet hat, konnte ich niemals constatiren. Die Harne waren immer eiweissfrei und es konnte in denselben Blut weder spectroscopisch noch chemisch nachgewiesen werden.

---

Wenn auch die mitgetheilten Untersuchungen in mancher Beziehung noch einer Ergänzung bedürfen, und wenn auch unsere Kenntnisse über die Huminsubstanzen im Allgemeinen noch vielfach mangelhaft sind, so möchte ich die Publication dieser Arbeit schon jetzt darum für gerechtfertigt halten, weil es immerhin von Interesse ist, constatirt zu haben, dass die Huminsubstanzen auch im thierischen Organismus eine Rolle spielen. Ich glaube auch, dass manchen Missverständnissen in der Lehre von den Harnfarbstoffen bei dieser Auffassung vorgebeugt werden kann.

Zum Schluss sei es mir gestattet, Herrn Prof. Hoppe-Seyler für die Anregung und Rathschläge, mit welchen er mich bei meiner Arbeit unterstützte, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

# Studien über reine Hefen.

Von

**Dr. Carl Amthor.**

(Der Redaction zugegangen am 1. August 1887.)

Nachdem durch die neueren Untersuchungen, hauptsächlich durch die Arbeiten Hansen's, unsere Kenntniss über die verschiedenen Hefen, namentlich in botanischer Hinsicht bereichert worden ist, schien es mir wünschenswerth, Einiges über die chemische Arbeit verschiedener Hefen in Bierwürze derselben Zusammensetzung zu erfahren.

Zu diesem Zwecke wurden nach dem Verfahren Hansen's 8 Hefen reingezüchtet. Die Hefen Carlsberg I und II (neue) verdanke ich der Freundlichkeit des Herrn Hansen.

Für alle Versuche wurde sterilisirte Würze derselben Zusammensetzung verwendet. Die Gährungen verliefen in Pasteur'schen 1 Liter-Kolben und zwar wurden 2 Versuchsreihen unter gleichen Bedingungen angestellt.

Die Gährung in den Kolben der Versuchsreihe I wurde unterbrochen, als nur noch schwache Kohlensäureentwickelung zu bemerken war. Diese Biere sind mit denen nach der Hauptgährung in der Praxis zu vergleichen.

Die Kolben der Versuchsreihe II blieben so lange stehen, bis keine Kohlensäureentwickelung mehr zu bemerken und die Biere ganz klar geworden waren. Nur im Kolben mit Saccharomyces ellypsoideus war noch schwache Kohlensäureentwickelung bemerkbar.

Sämmtliche Biere wurden 2mal filtrirt, in kleine Flaschen gebracht, bei 55° C. pasteurisirt und dann der Analyse unterworfen.

Zur Verhütung des Vorwurfs, dass verschiedene Hefe-Mengen verschiedene analytische Resultate bedingen konnten, wurde in allen Fällen von einer einzelnen Zelle ausgegangen und zwar säte ich zu gleicher Zeit in 2 Pasteur'sche $^1/_8$ Liter-Kolben mit je 60 cbcm. Würze je 1 Zelle derselben Hefe. Als die Gährung gut im Gang war, wurden die 2 $^1/_8$ Liter-Kolben in je 2 Liter-Kolben mit je 500 cbcm. Würze übergeführt und zwar wurde diese Operation zu derselben Zeit mit allen Kolben vorgenommen. Ueberhaupt wurden für sämmtliche Gährungen dieselben Versuchs-Bedingungen, also Zeitpunkt der Hefen-Aussaat, Unterbrechung der Gährung, Temperatur etc. eingehalten.

Die Gährungen I begannen am 4. März und wurden am 18. März unterbrochen. Mittlere Temperatur = + 11,9° C. Die Gährungen II begannen am 4. März und waren am 13. April beendet. Mittlere Temperatur bis 18. März = + 11,9° C., von da bis 13. April + 13,7° C.

Nur die Würze, welche mit Weinhefe angesetzt war, entwickelte noch schwach Kohlensäure, das Bier über der Hefe war aber klar.

Die verwendeten Hefen haben folgenden Ursprung:

1. Brauerei zum Franziskaner, München,
2. » Feltmann, Rotterdam,
3. » Gruber, Königshofen bei Strassburg,
4. » Carlsberg, Hefe I,
5. » » Hefe (neue) II,
6. Pastoriane Form aus hefetrübem Bier,
7. Oberhefe, Berliner Kühle Blonde,
8. Sacch. ellypsoideus aus Oberelsässer Weisswein (Muscateller von Hunaweier).

Die verwendete Würze hatte folgende Zusammensetzung:

In 100 cbcm. bei + 15° C.:

| | | |
|---|---|---|
| Maltose . . . . . . . | 10,8042 | gr. |
| Stickstoff . . . . . . | 0,1075 | » |
| Extrakt (Schultze) . . | 17,73 | » |

Sämmtliche analytische Daten sind Mittelzahlen aus 2 gut übereinstimmenden Analysen.

Biere vom 18. März.

No. 7 und 8 wurden beim Eindampfen auf die Hälfte zur Extraktbestimmung nach Schultze stark, die anderen schwach trübe.

| In 100 cbcm. | Alkohol Vol. % | Alkohol Gew. % | Extrakt. | Specifisches Gewicht. | Specifisches Gewicht des entgeisteten Bieres. | Wirklicher Vergährungs-Grad. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. Sacch. Cerev. Franziskaner | 5,63 | 4,50 | 9,39 | 1,0279 | 1,0355 | 47 |
| 2. » » Rotterdam. | 5,39 | 4,30 | 9,37 | 1,0288 | 1,0354 | 47,1 |
| 3. » » Königshofen | 5,32 | 4,25 | 9,76 | 1,0302 | 1,0368 | 44,9 |
| 4. » » Carlsberg I | 5,86 | 4,69 | 8,71 | 1,0259 | 1,0331 | 50,8 |
| 5. » » Carlsberg II | 5,94 | 4,75 | 8,49 | 1,0247 | 1,0323 | 52,1 |
| 6. S. Pastoriane Form . . | 5,39 | 4,31 | 9,34 | 1,0278 | 1,0353 | 47,3 |
| 7. Berliner Oberhefe . . | 5,47 | 4,37 | 8,59 | 1,0260 | 1,0327 | 51,5 |
| 8. S. ellypsoideus . . . | 3,55 | 2,83 | 12,61 | 1,0432 | 1,0476 | 28,8 |

Biere vom 13. April.

Von diesen waren nach 1maligem Filtriren ganz blank No. 1 bis 5, fast blank No. 7, trübe No. 6, ziemlich stark trübe No. 8. Letzteres schäumte beim Aufgiessen auf's Filter durch Abgabe von Kohlensäure stark, gährte also noch, war aber über der Hefe im Kolben blank.

Nach der zweiten Filtration war 7 blank, 6 ziemlich blank, 8 sowohl jetzt, als auch nach der dritten Filtration noch trübe.

Die Hefen 1 bis 5 lagen fest am Boden des Kolbens, während die Oberhefe, der S. pastorianus und ellypsoideus ganz locker waren und sich bei der geringsten Bewegung in der Flüssigkeit vertheilten. Das Bier aus S. ellypsoideus hatte ein von dem der übrigen stark abweichendes, weiniges Bouquet.

| In 100 cbcm. bei + 15° C. | Alkohol Vol. % | Alkohol Gew. % | Extrakt. | Specifisches Gewicht. | Specifisches Gewicht des entgeisteten Bieres. | Vergährungs-Grad. | Glycerin (aschefrei). | Stickstoff. | Reduc. Substanz als Maltose berechnet. | Farb-Intensität, Normal-Farbe von Stammer = 100. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. S. Cerev. Franziskaner . | 5,94 | 4,75 | 8,27 | 1,0239 | 1,0314 | 53,3 | 0,1071 | 0,0896 | 1,8858 | 14,29 |
| 2. » Rotterdam . | 5,63 | 4,50 | 8,35 | 1,0243 | 1,0317 | 52,9 | 0,0962 | 0,0948 | 1,9938 | 11,11 |
| 3. » Königshofen . | 5,63 | 4,50 | 8,37 | 1,0245 | 1,0318 | 52,8 | 0,1246 | 0,0941 | 2,0135 | 11,11 |
| 4. » Carlsberg I . | 6,02 | 4,81 | 8,46 | 1,0245 | 1,0322 | 52,2 | 0,1230 | 0,0975 | 1,9377 | 11,11 |
| 5. » Carlsberg II . | 6,02 | 4,81 | 8,33 | 1,0240 | 1,0316 | 53 | 0,1058 | 0,0952 | 1,9190 | 11,11 |
| 6 S. Pastoriane Form . . | 5,86 | 4,69 | 8,46 | 1,0247 | 1,0322 | 52,2 | 0,0777 | 0,0969 | 1,9158 | 12,50 |
| 7. Oberhefe, Berliner . . | 5,94 | 4,75 | 8,33 | 1,0242 | 1,0316 | 53 | 0,1196 | 0,0941 | 1,8878 | 12,50 |
| 8. S. ellypsoideus . . . . | 4,34 | 3,47 | 11,23 | 1,0369 | 1,0425 | 36,7 | 0,1494 | 0,0975 | — | 12,50 |

Diese Tabellen zeigen deutlich, dass selbst die Cultur-Hefen greifbare Differenzen in der von ihnen geleisteten chemischen Arbeit zeigen.

Es wurden ferner die Hefen auf Ascosporen-Bildung mittelst Gypsblock-Culturen untersucht.

Temperatur + 22—24,5° C.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| No. | 1 | zeigte | nach | 65 | Stunden die ersten Anfänge von Ascosporen. |
| » | 2 | » | » | 47 | » viele fertige und in Bildung begriffene Ascosporen. |
| » | 3 | » | » | 47 | » fertige und in Bildung begriffene, weniger wie No. 2. |
| » | 4 | » | » | 135 | » die ersten Anfänge. |
| » | 5 | » | » | 39 | » die ersten Anfänge, nach 48 Stunden wenige fertige, viele in Bildung. |
| » | 6 | » | » | 20 | » die ersten Anfänge, nach 36 Stunden ausserordentlich viele. |
| » | 7 | » | » | 40 | » wenige fertige, meist beginnende. |
| » | 8 | » | » | 49 | » die ersten Anfänge. |

Beim Vergleich der schwächer vergohrenen Biere vom 18. März mit denen vom 13. April ergibt sich zunächst, dass sich bei den ersteren je nach den verschiedenen Hefen theilweise grössere Unterschiede in den Vergährungsgraden bemerkbar machen, während diese Unterschiede bei den ganz vergohrenen Bieren mit Ausnahme des mit Weinhefe[1]) hergestellten fast ausgeglichen sind. Von den nach der Hauptgährung untersuchten Bieren des 18. März zeigen den stärksten Vergährungsgrad die aus den Carlsberger Hefen und der Oberhefe hergestellten. Verhältnissmässig schwach vergohren hatte die Gruber'sche Hefe aus Königshofen, am schwächsten die Weinhefe. Vom Stickstoffgehalt der angewandten Würze finden sich im Biere wieder bei:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| No. | 1 | = | 83,38 | %. |
| » | 2 | = | 88,18 | » |
| » | 3 | = | 87,52 | » |
| » | 4 | = | 90,66 | » |
| » | 5 | = | 88,56 | » |
| » | 6 | = | 90,18 | » |
| » | 7 | = | 87,52 | » |
| » | 8 | = | 90,67 | » |

1) Diese Hefe gehört zu den Alkoholgährungs-Pilzen, welche nach Hansen nur langsam die höheren Alkoholprocente erzeugen. Ber. d. deutschen botan. Gesellsch. 1884.

Es sind demnach 9,33 bis 16,62 % des Würze-Stickstoffs, im Mittel 11,67 % verbraucht worden.

Die Glycerin-Gehalte sind auffällig niedrig und kann ich die von Borgmann[1]) an 2 Carlsberger Bieren gemachte Beobachtung bestätigen, wonach in den mit Hefe-Reinculturen hergestellten Bieren bedeutend weniger Glycerin gefunden wurde, wie in gewöhnlichen. Während ich im Mittel für Elsässer Biere in 100 cbcm. 0,1440 Glycerin fand, für bayerische 0,1266[2]), haben die obenerwähnten, aus Reinculturen der 5 normalen Brauhefen hergestellten Biere 1 bis 5 bei höherem Alkoholgehalt im Mittel blos 0,1113 Glycerin. (Verhältniss von Glycerin zu Alkohol = 2,38 : 100.) Das Verhältniss von Glycerin zu Alkohol schwankt in den 8 Bieren von 1,65 : 100 bis 4,3 : 100. Bei bayrischen Bieren ist es durchschnittlich 3,57 : 100, bei Elsässer Bier 3,47 : 100. Den geringsten Glyceringehalt weist das Bier aus S. pastorianus auf.

Die Bestimmung der Farbintensitäten mittelst des Colorimeters von Stammer hat ergeben, dass einige Biere in der Intensität der Färbung etwas differiren.

Die angewandte Würze enthält nach Abzug der Maltose in 100 cbcm. = 6,9258 gr. Extrakt. Es ist nun auffallend, dass sämmtliche Biere nach Abzug des Zuckers weniger Extrakt enthalten, als die angewendete Würze. Bier 1 z. B. enthält nach Abzug des Zuckers in 100 cbcm. 6,3842 Extrakt. Es finden sich bei diesem Bier 0,54 Extrakt (Nicht-Zucker) in 100 cbcm. weniger, wie in der Würze, was darauf hinzudeuten scheint, dass während der Gährung noch eine Umwandlung von Dextrin in Zucker stattfindet. Theoretisch, wenn keine Nebenvorgänge stattfänden, müsste Maltose 52,63 % Alkohol bei der Gährung liefern. Da aber noch Glycerin, Bernsteinsäure etc. gebildet werden, so ist die Alkohol-Ausbeute geringer.

---

[1]) Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. XXV, S. 532.

[2]) Hygien. Topogr. der Stadt Strassburg, S. 167. Nach Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. XXI, S. 541, und C. Lintner, Lehrb. d. Bierbr., 1877, S. 548.

Nach Pasteur liefert die isomere Saccharose 51,11 % Alkohol.

| | | |
|---|---|---|
| Bier 1 enthält 4,75 Gew. % Alkohol, entsprechend theoretisch | 9,0252 | Maltose, |
| dazu Zucker im Bier | 1,8858 | |
| Sa. | 10,9110 | Zucker. |
| Bier 4 enthält 4,81 Gew. % Alkohol, entsprechend theoretisch | 9,1392 | Maltose, |
| dazu Zucker im Bier | 1,9377 | |
| Sa. | 11,0769 | Zucker. |

Während die Würze 10,8042 Zucker enthält, ist die Summe des Zuckergehaltes, die theoretische Menge berechnet aus dem entstandenen Alkohol, + Zucker im Bier, grösser. Es muss also während der Gährung eine Umwandlung von Dextrin in Zucker stattgefunden haben. In Wirklichkeit sind die Differenzen grösser. Da bei der Spaltung der Maltose in Alkohol und Kohlensäure Nebenprodukte entstehen, so wird weniger Alkohol producirt, wie oben angenommen. Der gefundene Alkohol entspricht also einer grösseren Menge Maltose. Nehmen wir an, dass die Maltose 51,11 % Alkohol bildet, wie die isomere Saccharose nach Pasteur, so gestaltet sich die Rechnung bei Bier 4 z. B. wie folgt:

| | | |
|---|---|---|
| Maltose (aus dem Alkohol berechnet) | 9,4110 | |
| Maltose im Bier . . . . . . . . . | 1,9377 | |
| Sa. | 11,3487 | Zucker, |

d. h. 0,5445 Maltose mehr, wie in der entsprechenden Würze.

Berücksichtigt man schliesslich, dass der Kupfer reducirende Körper der Würze als Maltose berechnet wurde, während vorhandene Dextrine[1]) und Maltodextrin[2]) reducirend wirken, also der Maltose-Gehalt zu hoch angegeben ist, so wird die Annahme, dass Dextrine während der Gährung in Zucker umgewandelt werden, noch mehr unterstützt.

---

[1]) F. Musculus u. Gruber, Beitr. z. Chem. der Stärke. Zeitschr. f. phys. Chem.; Bull. Soc. Chim., Bd. XXXX, S. 54; Journ. f. prakt. Chem., N. F., Bd. 28, S. 496.

[2]) Horace F. Brown u. G. H. Morris, Ueber die nichtcryst. Produkte der Einwirkung der Diastase auf Stärke. Zeitschr. Ges. Brauwesen 1885, S. 360 ff.

Brown und Morris (l. c.) beobachteten, dass in einer Lösung von Maltose, Maltodextrin und Achroodextrin durch Oberhefe starke Gährung erzeugt wurde. Nachdem dieselbe vollkommen beendet war, wurde zur Syrupconsistenz verdampft, der Syrup in Wasser gelöst und wieder Oberhefe zugesetzt. Es entstand nach einiger Zeit wieder Gährung und wie die Verfasser annehmen, da die Oberhefe anscheinend abgestorben war, durch sich entwickelnde Sacch. Pastorianus und ellypticus. Sie nehmen an, dass die wilden Hefen Hydrolyse der Dextrine veranlassten und dann den gebildeten Zucker vergährten. Sie glauben ferner, dass das Vermögen, Dextrin zu hydrolysiren und den gebildeten Zucker zu vergähren, auch dem typischen Saccharomyces Cerevisiae zukommen kann, aber in schwächerem Maasse, wie den wilden Hefen. Nach meinen Beobachtungen scheinen im Gegentheil die Brauhefen Carlsberg I und II mehr Dextrin hydrolysirt und Zucker vergohren zu haben, wie Sacch. Pastorianus und auch die Oberhefe. Da Brown und Morris nicht mit Reinculturen gearbeitet haben und auf die Form der Hefen nach Hansen's Untersuchungen Unterscheidungsmerkmale von Species meist nicht basirt werden können, so ist es gar nicht ausgeschlossen, dass die Dextringährungen von Brown und Morris durch ein Gemenge von wilden und Brauhefen veranlasst wurden.

Es könnte der Einwand erhoben werden, dass das Gewicht der Trockensubstanz der gebildeten Hefe das Deficit an Extrakt der Biere gegenüber der Würze erklären würde. Es wurde desshalb die Hefentrockensubstanz in einem Kolben bestimmt.

Das stark vergohrene Bier Carlsberg I hatte, von «einer» Hefezelle ausgehend für 100 cbcm., 0,1595 gr. bei 105° C. getrocknete Hefesubstanz gebildet. Diese 0,1595 gr. genügen aber, selbst wenn man annehmen will, dass alle Hefentrockensubstanz aus dem Nicht-Zucker der Würze gebildet wird, nicht, um die 0,5148 gr. Deficit des Bieres an Extrakt gegenüber der Würze zu decken.

## Untersuchungen über das Verhalten der in Nahrungs- und Futtermitteln enthaltenen Kohlehydrate zu den Verdauungsfermenten.

Von

**A. Stutzer** (Ref.) und **A. Isbert.**

(Mittheilung der landwirthschaftlichen Versuchsstation Bonn.)
(Der Redaction zugegangen am 12. August 1887.)

Nachdem die in dieser Zeitschrift wiederholt besprochenen Versuche des Ref. über die Einwirkung der Verdauungsfermente auf Proteinstoffe im Wesentlichen beendigt sind, haben wir versucht, das Princip dieser Methode bei einer anderen Stoffgruppe in Anwendung zu bringen, indem wir über den Einfluss diastatischer Fermente auf die N-fr. Stoffe der Nahrungs- und Futtermittel nähere Untersuchungen ausführten. Nachstehend theilen wir die Resultate unserer bisherigen Arbeiten mit.

Zunächst handelte es sich um die Frage: Lassen sich durch successive Einwirkung diastatischer Fermente auf Nahrungs- und Futtermittel die stickstofffreien Stoffe (excl. Fett) in einen verdaulichen und unverdaulichen Theil in der Weise zerlegen, dass dies Verfahren zu einer **quantitativen** Bestimmung der verdaulichen N-fr. Stoffe dienen kann?

Die verdaulichen Kohlehydrate werden theils durch das diastatische Ferment der verschiedenen Speichelflüssigkeiten des Mundes, theils durch dasjenige der Bauchspeicheldrüse in lösliche Verbindungen übergeführt, sofern sie nicht schon an und für sich löslich sind. Die Cellulose kann ebenfalls theil-

weise im thierischen Organismus gelöst werden, indess beruht diese Umwandlung nicht auf der Wirkung eines Drüsensecretes, sondern sie erfolgt durch einen durch Bakterien und andere niedere Organismen veranlassten Gährungs- und Fäulnissprocess[1]). Ueber den Werth der im Körper gelösten Cellulose gehen die Ansichten sehr weit auseinander. Während man früher die verdaute Cellulose mit den sonstigen verdaulichen Kohlehydraten gleichwerthig hielt und sogar auch noch jetzt bei Futterberechnungen die gelöste Cellulose als vollwerthigen Nährstoff in Anrechnung zu bringen pflegt, wurde vor einigen Jahren von verschiedenen Seiten der Werth der Cellulose für die Ernährung stark in Zweifel gezogen, ja sogar die Frage, ob Cellulose ein Nährstoff sei, direkt verneint (Tappeiner, Weiske). Nach unserer Ansicht sind die diesbezüglichen Versuche noch nicht als abgeschlossen zu betrachten und lässt sich nur mit Sicherheit annehmen, dass die Cellulose mindestens einen wesentlich geringeren Werth besitzt wie Stärkmehl, Zucker, Dextrin und andere N-fr. Stoffe. Ellenberger und Hofmeister sagen hierüber Folgendes:

«Die Cellulose geht bei der Verdauung wahrscheinlich zunächst in eine zuckerähnliche lösliche Modification über, welche theilweise resorbirt wird und theilweise der Sumpfgasgährung verfällt. Die Resorptionskraft des Darmkanals entscheidet darüber, ob viel oder wenig Cellulose zu Sumpfgas wird, wie sie auch darüber entscheidet, ob viel oder wenig Eiweiss verfault. Alles Organische im Darminhalt verfällt der Gährung und Fäulniss, wenn es nicht rasch genug resorbirt wird.» —

Die Ergebnisse neuerer Forschungen, durch welche der im Organismus gelösten Cellulose ein anderer Werth beizulegen ist, als bisher angenommen wurde, lassen es nun als wünschenswerth erscheinen, dass man die Menge der in der

---

[1]) Man vergleiche die diesbezüglichen Arbeiten von Ellenberger und Hofmeister (Landw. Jahrbücher, 16. Bd., S. 276), von Tappeiner und Anderen.

Nahrung gegebenen, durch Verdauungsfermente unlöslichen N-fr. Stoffe genau ermitteln kann. Es ist dies nur dadurch möglich, dass die Nahrungs- und Futtermittel ausserhalb des thierischen Organismus der Wirkung von Verdauungsfermenten ausgesetzt werden. Der Versuch mit lebenden Thieren vermag uns in dieser Beziehung keinen Aufschluss zu geben, weil im lebenden Organismus stets eine theilweise Lösung der Cellulose durch Fäulnissprocesse gleichzeitig stattfindet. Demnach können die Resultate der «künstlichen Verdauung» mit denjenigen «der natürlichen Verdauung der Kohlehydrate» niemals übereinstimmen. Zur Werthschätzung der Nahrungs- und Futtermittel würde einem «künstlichen» Verfahren, bei dem die Lösung der Cellulose vermieden wird, der Vorzug gegeben werden müssen.

Bevor wir auf die Untersuchungen näher eingehen, theilen wir zunächst über die Herstellung der Fermentlösungen Nachstehendes mit:

1. Lösung von Ptyalin. Die Herstellung grösserer Mengen einer Lösung von wirksamem Speichelferment ist mit gewissen Umständen verknüpft, zumal diese Fermentlösung sehr schnell zu Zersetzungen neigt. Wir wendeten uns daher an die bekannte Firma E. Merck in Darmstadt mit dem Ersuchen, uns aus den Speicheldrüsen der Schweine, welche bekanntlich besonders reich an diastatischem Ferment sind, ein wirksames und haltbares Präparat herzustellen. Bei Vorversuchen liessen wir den frischen Speichel mit Glycerin mischen und verwendeten die filtrirte Glycerinmischung, später ist bei den Hauptversuchen ausschliesslich ein trockenes Präparat bezogen, welches von E. Merck unter der Bezeichnung Ptyalin. activ. abgegeben wird. Von diesem Präparat wurden je 100 gr. mit einer Lösung von 1 gr. wasserfreiem $Na^2CO_3$ in 2 Liter Wasser übergossen, 1 Stunde lang auf + 40° C. erwärmt und dann filtrirt. Dieser Zusatz von $^1/_2$ pro Mille kohlensaurem Natron erwies sich als nothwendig, weil die wässerige Lösung des käuflichen Ptyalins nicht neutral, sondern sehr schwach sauer reagirte. Die saure wässerige Lösung hatte eine erheblich geringe Wirk-

samkeit. Ein Zusatz von mehr als 0,05 % $Na^2CO_3$ erwies sich als unnöthig, ja sogar weniger wirksam.

2. Lösung von Malzdiastase. Wir hielten es für wünschenswerth, über den Wirkungswerth der Malzdiastase im Vergleich zum diastatischen Speichelferment vergleichende Versuche auszuführen, um zu ermitteln, ob die überall leicht zu beschaffende Malzdiastase bei diesen Versuchen einen Ersatz für Speichelferment zu bieten vermag. Die Malzlösung wurde in folgender Weise bereitet: 1 Kilo zerstampftes Grünmalz wird mit 1½ Liter Glycerin und 1½ Liter Wasser gemischt, die Mischung 8 Tage lang unter bisweiligem Umrühren bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann ausgepresst und filtrirt.

3. Die Pepsinlösung, sowie die pankreatische Fermentlösung ist nach den in dieser Zeitschrift, Bd. XI, S. 208, 210, 226 angegebenen Vorschriften hergestellt.

---

**Qualitative Versuche über die Wirkung diastatischer Fermente auf stärkmehlhaltige Stoffe.**

Um über die Wirkung der diastatischen Fermente auf stärkmehlhaltige Stoffe im Allgemeinen orientirt zu sein, führten wir folgende Versuche aus: 5 gr. Weizenmehl wurde mit Wasser verkleistert, die Flüssigkeit zu 1 Liter verdünnt, je 50 cbcm. der Lösung mit diastatischem Ferment versetzt und von Zeit zu Zeit mittelst Jodlösung auf Stärkmehl geprüft. Hierbei ergab sich Folgendes:

1. Ptyalinlösung bei 40° C. und Malzdiastase bei 60° wirken beide sehr schnell.

2. Malzdiastase wirkt bei 40° erheblich langsamer.

3. Pankreasflüssigkeit ist in Gegenwart von freien organischen Säuren scheinbar unwirksam. Neutrale Pankreasflüssigkeit wirkt energischer auf die Umwandlung von Stärkmehl ein, wie alkalische.

---

Wir gelangen nun zur Besprechung der Haupt-Versuche, welche mit Weizenmehl, Kleeheu, Blätter von Kleeheu und Weissbrod ausgeführt wurden. Im Weizenmehl hatten wir eine Substanz mit hohem Gehalt an Stärkmehl, geringerem Gehalt an zarter, fein vertheilter Cellulose. Das Umgekehrte war der Fall beim Heu (bestehend aus einer Mischung von Trifolium pratense und Lolium perenne). Endlich wählten wir Weissbrod als Repräsentant eines Nahrungsmittels, welches einer besonderen Zubereitung (Backprocess) unterworfen gewesen ist. Das Weissbrod wurde, um ein gleichartiges Untersuchungsmaterial zu haben, getrocknet und dann fein gemahlen. Gelang es bei diesen 3 Versuchsobjekten, die vorhandenen N-fr. Stoffe durch successive Einwirkung von Verdauungsfermenten in einen verdaulichen und unverdaulichen Theil in der Weise zu zerlegen, dass diese Umsetzung bei Controlversuchen und bei verschiedenem Fermentgehalt der Flüssigkeiten stets in gleichen Gewichtsverhältnissen, also quantitativ erfolgte, so durften wir annehmen, dass eine solche Methode auch bei allen übrigen Nahrungs- und Futtermitteln sich anwenden lässt, dass auch bei anderen Nahrungs- und Futtermitteln die N-fr. Stoffe in einen durch ungeformte Fermente verdaulichen und unverdaulichen Theil quantitativ sich trennen lassen. — Bei nachstehenden Versuchen handelte es sich zunächst um die Frage, unter welchen Verhältnissen das Optimum der Verdauung erreicht wird. Da das anzuwendende Verfahren zur Bestimmung der Kohlehydrate ein indirektes war und bei indirekten Methoden die vorkommenden Beobachtungsfehler und Verluste sich in weit höherem Grade multipliciren, wie bei einem direkten analytischen Bestimmungsverfahren, glaubten wir bei Controlversuchen, die unter gleichen Bedingungen ausgeführt wurden, eine Abweichung vom Durchschnittsresultat von ± 0,2 % als zulässig annehmen zu sollen. Diese Latitude ist nicht so gross, dass hierdurch der praktische Werth der Methode zur Beurtheilung von Nahrungs- und Futtermitteln beeinträchtigt werden könnte. Bei Fütterungsversuchen pflegen bezüglich der N-fr. organischen Substanz die Differenzen der Controlversuche in der Regel viel grösser zu sein.

Die allgemeine Analyse der benutzten Untersuchungsobjekte ergab Folgendes:

| | 1. Blätter von Kleeheu. | 2. Weizenmehl. | 3. Kleeheu (Lolium perenne und Trifolium pratense). | 4. Weissbrod. |
|---|---|---|---|---|
| Fett (Aether-Extrakt) . | 4,60 | 1,54 | 3,66 | 0,22 |
| Protein . . . . . . | 15,33 | 10,15 | 9,69 | 11,88 |
| Wasser . . . . . . | 4,22 | 13,89 | 6,74 | 8,82 |
| Mineralstoffe . . . . | 8,58 | 0,68 | 6,98 | 2,12 |
| N-fr. organ. Stoffe . . | 67,27 | 73,74 | 72,93 | 76,96 |

**Allgemeines über die Ausführung der Versuche.**

Bei Bestimmung der Kohlehydrate bezw. der N-fr. Substanz glaubten wir uns, wie allgemein üblich, der indirekten Methode bedienen zu sollen. Es wird in dem Nahrungsmittel der Gehalt an Protein, Fett, Wasser, Asche (frei von Kohlensäure) ermittelt und das bei der procentischen Zusammenstellung der Analyse von 100 Fehlende als N-fr. Substanz in Anrechnung gebracht. In gleicher Weise geschieht die Untersuchung der Substanz nach der künstlichen Verdauung. Die Differenz der beiden Analysen ergibt die durch Fermente gelösten N-fr. Stoffe.

Die Untersuchungsobjekte wurden nur im völlig entfetteten Zustande der künstlichen Verdauung unterworfen, weil einerseits das Fett die Filtration erschweren und bei Anwendung von pankreatischen Fermenten ein Theil des Fettes gelöst und dadurch die indirekte Methode zur Bestimmung der Kohlehydrate ungenau werden würde. Die zu extrahirende Substanz wurde in eine aus glattem, dichten Filtrirpapier gefertigte, auf einer Seite mit Bindfaden zugebundene Hülse gebracht, nach geschehener Extraktion die Hülse geöffnet und mittelst einer Federfahne die Substanz in ein Becherglas geschüttet. Bei fast allen Untersuchungsobjekten kann man glattes Filtrirpapier bei der Extraktion verwenden,

ohne befürchten zu müssen, dass eine Verunreinigung der Substanz durch Papierfaser stattfindet, und hat die Benutzung eines Asbestfilters, statt des Filtrirpapiers, mit seltenen Ausnahmen als unnöthig sich erwiesen.

Die anzuwendenden Fermente wirken selbstverständlich auch auf Proteinstoffe ein, ganz abgesehen davon, dass von den Proteinstoffen schon allein durch wässerige Flüssigkeiten mehr oder weniger löslich werden kann. Es musste daher unser Bestreben sein, die Proteinstoffe bei der Verdauung möglichst zu entfernen, ohne gleichzeitig die Verdauung der Kohlehydrate zu beeinträchtigen. Keineswegs erschien es nöthig, die verdaulichen Proteinstoffe vollständig zu entfernen, und war es genügend, dass unter gleichen Versuchsbedingungen eine stets gleiche Menge N-h. Substanz neben den unverdaulichen Kohlehydraten unlöslich zurück blieb und von den letzteren in Abrechnung gebracht werden konnte. Der Eine von uns hat zu diesem Zwecke das Verhalten der Proteinstoffe zu den Verdauungsfermenten unter verschiedenen Verhältnissen nochmals geprüft und einen besonderen Bericht hierüber erstattet[1]).

Die Herstellung einer kohlensäurefreien Asche geschah bei den Untersuchungen einfach in der Weise, dass die Asche mit wenig Salpetersäure befeuchtet und dann längere Zeit bis zur Zersetzung der Nitrate erhitzt wurde. Das Gewicht der Reinasche musste selbstverständlich schliesslich constant bleiben. Bei allen Versuchen wurden stets genau 2 gr. von der zu untersuchenden Substanz abgewogen, entfettet, dann in ein Becherglas gebracht, mit 100 cbcm. Wasser übergossen, zum Sieden erhitzt, und nachdem die Flüssigkeit halb erkaltet war, die Fermentlösung hinzugefügt.

a) Ptyalinlösung. Verwendete Menge = 200 cbcm. Erwärmungsdauer = 2 Stunden lang auf 37—40° C.

b) Diastaselösung. Verwendefe Menge = 25 cbcm. Erwärmungsdauer = 2 Stunden lang auf 60—65° C.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XI, S. 529.

c) Pepsinlösung. Bei vielen Versuchen ist nach Einwirkung von Ptyalin oder Diastase noch 400 cbcm. Pepsinlösung hinzugefügt, um die Proteinstoffe löslich zu machen. War Ptyalin in der Flüssigkeit enthalten, so wurde vor dem Zusatz von Pepsin die Flüssigkeit durch ausgeglühten Asbest filtrirt und der Rückstand ausgewaschen; bei den Diastase-Versuchen konnte die Flüssigkeit direkt mit saurer Pepsinlösung versetzt werden, weil bei diesen die mit dem Pepsin verbundene Salzsäure keine Ausscheidung veranlasste, während in der Ptyalinlösung beim Ansäuern ein flockiger Niederschlag sich bildete.

d) Pankreas-Flüssigkeit. In allen Fällen, in denen nach Behandlung mit den vorhin genannten Fermenten noch eine Einwirkung von Pankreasferment stattfinden sollte, wurde die Flüssigkeit wieder zuvor durch Asbest filtrirt, das Unlösliche mit Wasser ausgewaschen, der Rückstand nebst dem Asbest mittelst wenig Wasser in ein Becherglas gebracht, mit 100 cbcm. Pankreasflüssigkeit übergossen und 3 Stunden lang auf + 37—40° C. erwärmt.

Nun haben wir die Flüssigkeit nochmals durch Asbest filtrirt (unter Anwendung eines in den Trichter gelegten Conus von feinem Messingdrahtgewebe), den Rückstand mit Wasser ausgewaschen, in eine Platinschale gebracht, bei 100° getrocknet, bis das Gewicht von Schale + Inhalt constant blieb, den Inhalt der Schale verascht, die Kohlensäure mit Salpetersäure ausgetrieben und nochmals geglüht, bis keine Gewichtsabnahme mehr stattfand. Die Differenz zwischen beiden Wägungen gab die unverdaute organische Substanz an, welche, da die Untersuchungsprobe vorher entfettet war, nur aus N-h. Substanz und unlöslichen Kohlehydraten (Cellulose etc.) bestehen konnte. Um den Gehalt an Kohlehydraten (frei von N-h. Substanz) zu finden, wurden gleiche Versuche ausgeführt, die unverdaut gebliebenen Stoffe jedoch nicht verascht, sondern zur Stickstoffbestimmung benutzt, der gefundene Stickstoff mit dem üblichen Faktor 6,25 multiplicirt, dadurch auf Protein berechnet, und letzteres von den unlöslichen Kohlehydraten in Abzug gebracht.

**Erste Versuchsreihe.**

Wirkung von Ptyalin und Malzdiastase, theils mit, theils ohne nachfolgende Wirkung von Pepsin.

a) Versuche mit Blätter von Kleeheu. Die Untersuchungsprobe bestand aus gemahlenem Heu von Raigras und Rothklee, von dem durch Absieben die gröberen Stengeltheile entfernt waren.

Das Nähere ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

| No. | Verwendete Menge der Lösung von | | | a) Ungelöst gebliebene organische Trockensubstanz | | b) Gehalt der unlöslichen Trockensubstanz an | | c) Unlösliche Kohlehydrate (a — b = c) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pepsin cbcm. | gr. | % | N % | Protein % | % |
| 1 | 100 (saure wässerige Lösung) | — | 400 | 1,1130 | 55,65 | 0,838 | 5,27 | 50,38 |
| 2 | 100 ( do. ) | — | 400 | 1,1170 | 55,35 | 0,850 | | 50,58 |
| 3 | 200 ( do. ) | — | 400 | 1,1348 | 56,74 | 1,063 | 6,64 | 50,10 |
| 4 | 200 ( do. ) | — | 400 | 1,1370 | 56,85 | 1,063 | | 50,21 |
| 5 | 300 ( do. ) | — | 400 | 1,1960 | 59,80 | 1,369 | 8,55 | 51,25 |
| 6 | 300 ( do. ) | — | 400 | 1,1930 | 59,65 | 1,369 | | 51,10 |
| 7 | — | 15 | 400 | 1,1000 | 55,00 | 0,966 | 6,03 | 48,97 |
| 8 | — | 25 | 400 | 1,1100 | 55,50 | 0,992 | 6,20 | 49,30 |
| 9 | — | 25 | 400 | 1,1025 | 55,12 | 0,992 | | 48,92 |
| 10 | — | 50 | 400 | 1,1420 | 57,10 | 1,056 | 6,60 | 50,50 |
| 11 | — | 50 | 400 | 1,1338 | 56,69 | 1,056 | | 50,09 |
| 12 | 200 (neutrale Lösung) | — | 400 | 1,0330 | 51,65 | 0,560 | 3,45 | 48,20 |
| 13 | 200 ( do ) | — | 400 | 1,0310 | 51,55 | 0,545 | | 48,10 |

b) Versuche mit Weizenmehl.

| No. | Verwendete Menge der Lösung von: Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pepsin cbcm. | a) Ungelöst gebliebene organische Trockensubstanz: gr. | % | b) Gehalt der unlöslichen Trockensubstanz an: N % | Protein % | c) Unlösliche Kohlehydrate (a — b = c) % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 14 | 200 (saure wässerige Lösung) | — | 400 | 0,1190 | 5,95 | 0,08 | 0,50 | 5,45 |
| 15 | 200 ( do. ) | — | 400 | 0,1140 | 5,70 | 0,08 | | 5,20 |
| 16 | 300 ( do. ) | — | 400 | 0,1190 | 5,95 | 0,20 | 1,25 | 4,70 |
| 17 | 300 ( do. ) | — | 400 | 0,1206 | 6,03 | 0,20 | | 4,78 |
| 18 | 400 ( do. ) | — | 400 | 0,1310 | 6,55 | 0,209 | 1,25 | 5,25 |
| 19 | 100 (neutral) | — | 400 | 0,0940 | 4,70 | 0,198 | 1,28 | 3,42 |
| 20 | 100 ( do. ) | — | 400 | 0,0944 | 4,72 | 0,213 | | 3,44 |
| 26 | 200 (neutral) | — | 400 | 0,0610 | 3,05 | 0,113 | 0,70 | 2,35 |
| 27 | 200 ( do. ) | — | 400 | 0,0590 | 2,95 | | | 2,25 |
| 28 | 200 ( do. ) | — | — | 0,0620 | 3,10 | 0,130 | 0,82 | 2,39 |
| 29 | 200 ( do. ) | — | — | 0,0600 | 3,00 | | | 2,29 |
| 30 | 300 (neutral) | — | — | 0,0640 | 3,20 | 0,113 | 0,70 | 2,50 |
| 31 | 300 ( do. ) | — | — | 0,0656 | 3,28 | 0,113 | | 2,58 |

## b) Versuche mit Weizenmehl. (Fortsetzung.)

| No. | Verwendete Menge der Lösung von: Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pepsin cbcm. | a) Ungelöst gebliebene organische Trockensubstanz: gr. | % | b) Gehalt der unlöslichen Trockensubstanz an: N % | Protein % | c) Unlösliche Kohlehydrate (a — b = c) % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 32 | 200 ( do. ) | 25 | — | 0,0610 | 3,05 | 0.114 | 0,71 | 2,34 |
| 33 | 200 ( do. ) | 25 | — | 0,0620 | 3,10 | | | 2,39 |
| 21 | 100 (schwach alkalisch)[1] | — | 400 | 0,1054 | 5,27 | 0,198<br>0,205 | 1,27 | 4,00 |
| 22 | 200 (schwach alkalisch)[1] | — | 400 | 0,0840 | 4,20 | 0,031 | 0,20 | 4,00 |
| 23 | 200 ( do. ) | — | 400 | 0,0810 | 4,05 | 0,031 | | 3,85 |
| 24 | 200 (deutlich alkalisch)[1] | — | 400 | 0,1020 | 5,10 | 0,016 | 0,10 | 5,00 |
| 25 | 200 ( do. ) | — | 400 | 0,1000 | 5,00 | | | 4,90 |

[1]) Bei Versuch 21—23 ist die Menge des zugesetzten $Na^2CO_3$ verdoppelt (= 0,10 %), bei Versuch 24 und 25 verdreifacht (= 0,15 %) worden, um die Einwirkung von Alkali zu verfolgen. Die erstere Flüssigkeit reagirte sehr schwach, die letztere deutlich alkalisch. Bei allen sonstigen Versuchen ist auf 1 Liter Wasser, welches zur Extraktion des trockenen Ptyalin-Präparates diente, 0,5 gr. $Na^2CO_3$ (= 0,05 %) verwendet und genügte dies, um die in dem Präparat enthaltene Säure genau zu neutralisiren. Der geringe N-Gehalt bei Versuch 24 und 25 ist nach unserer Ansicht nicht auf die verdauende Wirkung des Ptyalins, sondern einfach auf die lösende Wirkung grösserer Mengen von Soda zurückzuführen.

b) Versuche mit Weizenmehl. (Fortsetzung.)

| No. | Verwendete Menge der Lösung von | | | a) Ungelöst gebliebene organische Trockensubstanz | | b) Gehalt der unlöslichen Trockensubstanz an | | c) Unlösliche Kohlehydrate (a — b = c) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pepsin cbcm. | gr. | % | N % | Protein % | % |
| 34 | — | 25 | 400 | 0,0630 | 3,15 | 0,112 | 0,75 | 2,40 |
| 35 | — | 25 | 400 | 0,0610 | 3,05 | 0,128 | | 2,30 |
| 36 | — | 25[1] | 400 | 0,0640 | 3,20 | 0,120 | 0,75 | 2,45 |
| 37 | — | 25 | 400 | 0,0630 | 3,15 | | | 2,35 |
| 38 | — | 15 | 400 | 0,0640 | 3,20 | 0,120 | 0,75 | 2,45 |
| 39 | — | 15 | 400 | 0,0600 | 3,00 | | | 2,25 |
| 40 | — | 50 | 400 | 0,0690 | 3,45 | 0,160 | 1,00 | 2,45 |
| 41 | — | 50 | 400 | 0,0690 | 3,45 | 0,160 | | 2,45 |
| 42 | — | 25[2] | 400 | 0,1100 | 5,50 | 0,122 | 0,76 | 2,74 |
| 43 | — | 25 | 400 | 0,1044 | 5,22 | 0,122 | | 4,46 |
| 44 | — | 25 | — | 0,2350 | 11,75 | 1,143 | 7,15 | 4,60 |
| 45 | — | 25 | — | 0,2290 | 11,45 | 1,143 | | 4,30 |

[1]) Die zu diesem Versuch verwendete Diastaselösung war bereits 1½ Jahr alt. Es sollte ermittelt werden, ob die Diastaselösung längere Zeit ihre Wirksamkeit behält.

[2]) Die Untersuchungsprobe wurde mit der Diastaselösung nur auf 37—40° und nicht, wie sonst bei den Diastase-Versuchen geschehen, auf 60—65° erwärmt.

## c) Versuche mit Kleeheu.

| No. | Verwendete Menge der Lösung von: Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pepsin cbcm. | a) Ungelöst gebliebene organische Trockensubstanz gr. | % | b) Gehalt der unlöslichen Trockensubstanz an N % | Protein % | c) Unlösliche Kohlehydrate (a — b = c) % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 46 | 100 (neutral) | — | — | 1,1510 | 57,55 | 0,792 | 4,95 | 52,60 |
| 47 | 100 ( do. ) | — | — | 1.1530 | 57,65 | 0,792 | | 52,70 |
| 48 | 50 ( do. ) | — | — | 1,1500 | 57,50 | 0,792 | 4,95 | 52,55 |
| 49 | 50 ( do. ) | — | — | 1,1510 | 57,55 | | | 52,60 |
| 50 | 100 ( do. ) | — | 400 | 1,1097 | 54,85 | 0,650 | 4,06 | 50,79 |
| 51 | 100 ( do. ) | — | 400 | 1,1010 | 55,05 | | | 50,99 |
| 52 | — | 25 | 400 | 1,1680 | 58,40 | 0,885 | 5,62 | 52,78 |
| 53 | — | 25 | 400 | 1,1590 | 57,95 | 0,917 | | 52,33 |

## d) Versuche mit Weissbrod.

| No. | Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pepsin cbcm. | gr. | % | N % | Protein % | Unlösliche Kohlehydrate % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 54 | 200 (neutral) | — | — | 0,0740 | 3,70 | 0,110 | 0,68 | 3,02 |
| 55 | 200 ( do. ) | — | — | 0,0750 | 3,75 | 0,110 | | 3,07 |
| 56 | 200 ( do. ) | — | 400 | 0,0670 | 3,35 | 0,080 | 0,45 | 2,95 |
| 57 | 200 ( do. ) | — | 400 | 0,0640 | 3,20 | 0,065 | | 2,75 |
| 58 | — | 25 | 400 | 0,1285 | 6,40 | 0,394 | 2,46 | 3,94 |
| 59 | — | 25 | 400 | 0,1240 | 6,20 | 0,394 | | 3,74 |

Diese Versuche veranlassen uns zu nachfolgenden Schlussfolgerungen:

1. Neutrale Ptyalinlösung hat eine bessere Wirkung auf das Lösungsvermögen der Kohlehydrate, wie die schwach saure Fermentflüssigkeit (Versuche 12, 13, 19, 20), auch übertraf die erstere in dieser Eigenschaft eine schwach alkalisch gemachte Ptyalinlösung (Versuche 21—25).

Wir möchten diese von uns gemachte Erfahrung bezüglich der neutralen Ptyalinlösung zunächst nur auf das von uns benutzte Präparat bezogen haben. Es liegen bisher keine Versuche vor, aus denen zu ersehen ist, ob durch ganz frischen gemischten Mundspeichel bei neutraler Reaction das Optimum der Wirkung früher erreicht wird, wie bei alkalischer Reaction. Die nachtheilige Wirkung von Säuren auf Ptyalin ist bereits von Ellenberger und Hofmeister nachgewiesen (Landw. Jahrbücher, 16. Bd., S. 237). Dieselben fanden, dass schon 0,02—0,03 % Salzsäure die Speichelwirkung aufhebt, Milchsäure aber erst bei 0,4—0,6 %.

2. Für Substanzen, die reich an verdaulichen Kohlehydraten sind (Weizenmehl), genügen bei 2 gr. der Untersuchungssubstanz = 200 cbcm. der von uns benutzten neutralen Ptyalinlösung, um das Optimum der Wirkung zu erzielen. Bei Untersuchungsobjekten, welche relativ arm an verdaulichen Kohlehydraten sind (Heu), wird das Optimum der Wirkung schon durch 50—100 cbcm. Ptyalinlösung erreicht (Versuche 19, 20, 26—33, 46—49).

3. Von der Malzdiastase genügten 25 cbcm., um eine möglichst günstige Wirkung hervorzubringen (Versuche 7—11, 34—41).

4. Die Diastaselösung kann sehr lange Zeit aufbewahrt werden, ohne an Wirkungswerth eine wesentliche Einbusse zu erleiden (Versuch 36, 37). Diastase wirkt bei 37—40° C. erheblich schwächer, als bei 60° (Versuche 34, 35, 42, 43). Diese letztere Beobachtung ist längst bekannt und nur von uns nochmals ziffermässig nachgewiesen.

5. Ptyalinlösung, allein angewendet, wirkte besser als wie Diastase (Versuche 28—31, 44, 45). Bei

**nachfolgender Wirkung von Pepsin erwiesen sich dagegen Ptyalin und Diastase vollständig gleichwerthig** (Versuche 26, 27, 34—41).

6. Durch successive Wirkung von Diastase und neutraler Ptyalinlösung wurde keine höhere Verdaulichkeit erzielt als durch alleinige Anwendung von Ptyalin (Versuche 28, 29, 32, 33).

7. Bei Gegenwart sehr grosser Mengen von Fermenten wird die Wirkung des letzteren in der Regel abgeschwächt[1]) (Versuche 3—6, 16—18, 28—31, 8—11). Eine Abschwächung wurde nicht beobachtet, als wir Diastase auf Weizenmehl einwirken liessen (Versuche 34—41).

8. **Die neutrale Ptyalinlösung vermag nicht unerhebliche Mengen von Protein aufzulösen** (Versuche 3, 4, 12, 13, 26—31, 46—53, 54—59) und scheint es wünschenswerth, die Einwirkung des Mundspeichels auf Proteinstoffe einer näheren Prüfung zu unterwerfen.

### Zweite Versuchsreihe.

### Alleinige Wirkung von Pankreasferment.

Die diesbezüglichen Versuche wurden nur mit Weizenmehl ausgeführt, welches von gleicher Beschaffenheit war, wie das bei den früheren Versuchen benutzte.

| No. | Menge der Pankreasflüssigkeit. cbcm. | a) Unlöslich gebliebene organische Trockensubstanz gr. | a) % | b) Gehalt der unlöslichen Trockensubstanz an N % | b) Protein % | c) Unlösliche Kohlehydrate (a — b = c) % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 60 | 100 (neutral) | 0,1480 | 7,40 | 0,080 | 0,50 | 6,90 |
| 61 | 100 ( do. ) | 0,1500 | 7,50 | 0,080 | | 7,00 |
| 62 | 100 (alkalisch 0,25% $Na^2CO^3$ enthaltend) | 0,2570 | 12,85 | 0,032 | 0,20 | 12,65 |
| 63 | 100 ( do. ) | 0,2540 | 12,70 | 0,032 | | 12,50 |

1) Gleiche Beobachtungen machten Ellenberger und Hofmeister bezüglich des Pepsins bei Versuchen mit Pferden. Centralbl. f. Agriculturchemie, 1887, S. 230.

Schlussfolgerungen aus vorstehenden Versuchen:

1. 100 cbcm. der von uns benutzten Pankreasflüssigkeit wirkten auf die Verdauung der Kohlehydrate erheblich schwächer ein, wie Ptyalin oder Malzdiastase.

2. Neutrale Pankreasflüssigkeit hat für die Kohlehydrate des Weizenmehls eine bessere Wirkung, als das schwach alkalisch gemachte Ferment.

3. Die Proteinstoffe des Untersuchungsobjektes wurden durch die Pankreasflüssigkeit vorzüglich gut verdaut, namentlich von der alkalischen Fermentlösung. Diese Eigenschaft des Pankreasfermentes ist bei früheren Versuchen des Ref. bereits wiederholt beobachtet[1]).

### Dritte Versuchsreihe.

Successive Einwrkung von Ptyalin und Pankreas (ohne Pepsin) beziehungsweise von Malzdiastase und Pankreas.

a) Versuche mit Weizenmehl.

| No. | Verwendete Menge der Lösung von: Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pankreas cbcm. | a) Unlöslich gebliebene organische Trockensubstanz: gr. | % | b) Gehalt der unlöslichen Trockensubstanz an: N % | Protein % | c) Unlösliche Kohlehydrate (a — b = c) % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 64 | 200 (neutral) | — | 100 (alkalisch) | 0,0590 | 2,95 | 0,081 | 0,51 | 2,44 |
| 65 | 200 ( do. ) | — | 100 ( do. ) | 0,0580 | 2,90 | 0,081 | | 2,39 |
| 66 | — | 25 | 100 ( do. ) | 0,0850 | 4,25 | 0,081 | 0,51 | 3,74 |
| 67 | — | 25 | 100 ( do. ) | 0,0840 | 4,20 | | | 3,69 |
| 68 | 200 (neutral) | — | 100 (neutral) | 0,0590 | 2,95 | 0,097 | 0,62 | 2,33 |
| 69 | 200 ( do. ) | — | 100 ( do. ) | 0,0570 | 2,85 | 0,113 | | 2,23 |

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XI, S. 534.

## b) Versuche mit Kleeheu.

| No. | Verwendete Menge der Lösung von: Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pankreas cbcm. | a) Unlöslich gebliebene organische Trockensubstanz: gr. | % | b) Gehalt der unlöslichen Trockensubstanz an: N % | Protein % | c) Unlösliche Kohlehydrate (a — b = c) % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 70 | 100 (neutral) | — | 100 (alkalisch) | 1,0980 | 54,95 | 0,536 | 3,35 | 51,60 |
| 71 | 100 ( do. ) | — | 100 ( do. ) | 1,1060 | 55,30 | 0,536 | | 51,95 |
| 72 | 100 ( do. ) | — | 100 (neutral) | 1,1280 | 56,40 | 0,764 | 4,77 | 51,63 |
| 73 | 100 ( do. ) | — | 100 ( do. ) | 1,1280 | | | | 51,63 |

## c) Versuche mit Weissbrod.

| No. | Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pankreas cbcm. | gr. | % | N % | Protein % | % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 74 | 200 (neutral) | — | 100 (alkalisch) | 0,0590 | 2,95 | 0,063 | 0,39 | 2,56 |
| 75 | 200 ( do. ) | — | 100 ( do. ) | 0,0600 | 3,00 | 0,063 | | 2,61 |

Schlussfolgerungen:

1. Bei successiver Einwirkung genügender Mengen von neutraler Ptyalinlösung und Pankreasferment war das letztere bei Versuchen mit Weizenmehl sowohl in neutraler, wie auch in alkalischer Flüssigkeit unwirksam, indem das Optimum der Wirkung bereits durch Ptyalin allein erreicht wurde (Versuche 28, 29, 64, 65, 68, 69). Bei Kleeheu und Weissbrod war dagegen eine sehr schwache Wirkung des Pankreasfermentes bemerkbar (Versuche 46, 47, 70—73, sowie 54, 55, 74, 75).

2. Pankreasferment wirkt auf die Proteinstoffe, wie schon oft beobachtet, bei Gegenwart von Alkali energischer ein, wie bei neutraler Reaction der Flüssigkeiten (Versuche 66—69).

3. Durch Malzdiastase mit nachfolgender Einwirkung von Pankreasferment wird eine geringere Menge der Kohlehydrate verdaut, wie durch Ptyalin, beziehungsweise durch Ptyalin und Pankreasferment (Versuche 64—69, 28, 29).

**Vierte Versuchsreihe.**

## Successive Einwirkung von Ptyalin, Pepsin und Pankreasferment, sowie von Malzdiastase, Pepsin und Pankreasferment.

### a) Versuche mit Weizenmehl.

| No. | Verwendete Menge der Lösung von: Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pepsin cbcm. | Pankreas cbcm. | a) Unlöslich gebliebene organische Substanz gr. | a) % | b) Gehalt der unlöslichen Trockensubstanz an N % | b) Protein % | c) Unlösliche Kohlehydrate (a — b = c) % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 76 | 300 (wässerige saure Lösung) | — | 400 | 100 (alkalisch) | 0,0750 | 3,75 | 0,045 | 0,28 | 3,47 |
| 77 | 300 ( do. ) | — | 400 | 100 ( do. ) | 0,0700 | 3,50 | 0,045 | | 3,22 |
| 78 | 300 ( do. ) | — | 400 | 100 (neutral) | 0,0790 | 3,95 | 0,107 | 0,66 | 3,29 |
| 79 | 300 ( do. ) | — | 400 | 100 ( do. ) | 0,0760 | 3,80 | | | 3,14 |
| 80 | 200 (neutral) | — | 400 | 100 (alkalisch) | 0,0560 | 2,80 | 0,065 | 0,41 | 2,39 |
| 81 | 200 ( do. ) | — | 400 | 100 ( do. ) | 0,0580 | 2,90 | 0,065 | | 2,49 |
| 82 | -- | 25 | 400 | 100 ( do. ) | 0,0530 | 2,65 | 0,048 | 0,30 | 2,35 |
| 83 | -- | 25 | 400 | 100 ( do. ) | 0,0540 | 2,70 | 0,048 | | 2,40 |
| 84 | — | 25 | 400 | 100 (neutral) | 0,0590 | 2,95 | 0,097 | 0,61 | 2,34 |
| 85 | — | 25 | 400 | 100 ( do. ) | 0,0600 | 3,00 | 0,097 | | 2,39 |
| 86 | — | 25 | 400 | 100 ( do. ) | 0,0580 | 2,90 | | | 2,29 |

## b) Versuche mit Blättern von Kleeheu.

| No. | Verwendete Menge der Lösung von: Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pepsin cbcm. | Pankreas cbcm. | a) Unlöslich gebliebene organische Substanz gr. | % | b) Gehalt der unlöslichen Trockensubstanz an N % | Protein % | c) Unlösliche Kohlehydrate (a — b = c) % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 87 | — | 25 | 400 | 100 (neutral) | 1,0630 | 53,15 | 0,816 | 5,10 | 48,05 |
| 88 | — | 25 | 400 | 100 ( do. ) | 1,0600 | 53,00 | | | 47,90 |
| 89 | — | 25 | 400 | 100 (alkalisch) | 0,9930 | 49,65 | 0,435 | 2,92 | 46,73 |
| 90 | — | 25 | 400 | 100 ( do. )[1] | 0,9840 | 49,20 | 0,435 | 2,92 | 46,28 |
| 91 | — | 25 | 400 | 100 ( do. )[1] | 0,9870 | 49,35 | 0,435 | | 46,43 |
| 92 | — | 25 | 400 | 150 (alkalisch) | 0,9900 | 49,50 | 0,435 | 2,92 | 46,58 |
| 93 | — | 25 | 400 | 150 ( do. ) | 0,9860 | 49,30 | 0,435 | | 46,38 |

[1]) Ausnahmsweise enthielt diese Pankreasflüssigkeit 0,5 % $Na^2CO_3$ statt 0,25 %, um die Einwirkung grösserer Mengen von Alkali auf die Kohlehydrate zu beobachten.

c) Versuche mit Kleeheu.

| No. | Verwendete Menge der Lösung von: Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pepsin cbcm. | Pankreas cbcm. | a) Unlöslich gebliebene organische Substanz gr. | % | b) Gehalt der unlöslichen Trockensubstanz an N % | Protein % | c) Unlösliche Kohlehydrate (a — b = c) % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 94 | 100 (neutral) | — | 400 | 100 (neutral) | 1,0870 | 54,35 | 0,650 | 4,06 | 50,29 |
| 95 | 100 ( do. ) | — | 400 | 100 ( do. ) | 1,0900 | 54,45 | 0,650 | | 50,39 |
| 96 | 100 ( do. ) | — | 400 | 100 (alkalisch) | 1,0210 | 51,05 | 0,43 | 2,68 | 48,37 |
| 97 | 100 ( do. ) | — | 400 | 100 ( do. ) | 1,0240 | 51,20 | | | 48,52 |
| 98 | — | 25 | 400 | 100 ( do. ) | 1,0250 | 51,25 | 0,43 | 2,68 | 48,57 |
| 99 | — | 25 | 400 | 100 ( do. ) | 1,0270 | 51,35 | 0,43 | | 48,67 |

d) Versuche mit Weissbrod.

| No. | Ptyalin cbcm. | Diastase cbcm. | Pepsin cbcm. | Pankreas cbcm. | gr. | % | N % | Protein % | % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 100 | 200 (neutral) | — | 400 | 100 (neutral) | 0,0650 | 3,25 | 0,071 | 0,44 | 2,81 |
| 101 | 200 ( do. ) | — | 400 | 100 ( do. ) | 0,0640 | 3,20 | 0,071 | | 2,76 |
| 102 | 200 ( do. ) | — | 400 | 100 (alkalisch) | 0,0570 | 2,85 | 0,039 | 0,24 | 2,61 |
| 103 | 200 ( do. ) | — | 400 | 100 ( do. ) | 0,0570 | 2,85 | 0,039 | | 2,61 |
| 104 | — | 25 | 400 | 100 ( do. ) | 0,0560 | 2,80 | 0,031 | 0,21 | 2,59 |
| 105 | — | 25 | 400 | 100 ( do. ) | 0,0580 | 2,90 | 0,039 | | 2,69 |

Ergebnisse der vierten Versuchsreihe.

1. Die früher beobachtete ungünstige Wirkung von schwach saurer Ptyalinlösung im Vergleich zur neutralen trat auch bei nachfolgender Einwirkung von Pepsin und Pankreasferment (letzteres theils in neutraler, theils in alkalisch reagirender Flüssigkeit angewendet) scharf hervor (Versuche 76—81).

2. Das durch successive Anwendung von neutraler Ptyalinlösung, Pepsin und Pankreasferment erzielte Optimum der Wirkung stimmt genau mit dem durch successive Anwendung von Malzdiastase, Pepsin und Pankreasferment erzielten Optimum überein (Versuche 80—86, 96—99, 102—105).

3. In der zweiten Versuchsreihe wurde der Nachweis geliefert, dass neutrale Pankreasflüssigkeit, allein angewendet, auf die Verdauung der Kohlehydrate des Weizenmehls günstiger einwirkt, wie bei alkalischer Reaction der Verdauungsflüssigkeit. Trotzdem empfiehlt es sich, das Pankreasferment bei successiver Einwirkung der Fermente der Mundspeicheldrüsen, der Magenschleimhaut und des Bauchspeichels in schwach alkalischer Lösung einwirken zu lassen.

Es werden durch die alkalische Flüssigkeit nicht nur die Proteinstoffe vollständiger gelöst und bei Controlversuchen gleichmässigere Resultate bezüglich des Gehaltes der Untersuchungsprobe an unverdaulicher organischer Substanz (N-fr. + N-h.) erhalten, sondern es scheint thatsächlich, wenn es sich darum handelt, nach vorhergehender Einwirkung von Ptyalin und Pankreas bezw. von Diastase und Pankreas, nur die letzten verdaulichen Antheile der Kohlehydrate zu extrahiren, die alkalische Pankreasflüssigkeit bei schwerer verdaulichen Nahrungs- und Futtermitteln günstiger auf die Lösung der Kohlehydrate einzuwirken, wie die neutrale Flüssigkeit (Versuche 87—89, 94—97). Vielleicht übt hierbei die physikalische Beschaffenheit der vegetabilischen Zellen gewisser Untersuchungsobjekte einen Einfluss aus, indem die alkalische Flüssigkeit das Diffusionsvermögen des Zellinhaltes günstig

beeinflusst, indess kann dieser Unterschied vielleicht auch nur auf chemische Ursachen zurückgeführt werden.

4. Die Menge der anzuwendenden alkalischen Pankreasflüssigkeit beträgt zweckmässig 100 cbcm. Der Gehalt an $Na^2CO_3 = 0{,}25\,{}^0/_0$. Diese Quantität genügt, um das Optimum der Wirkung auf Kohlehydrate und Proteinstoffe (nach vorhergehender Behandlung mit Ptyalin und Pepsin, bezw. Diastase und Pepsin) zu erreichen. Eine grössere Quantität der Pankreasflüssigkeit wird keine bessere Wirkung hervorbringen, ebenso erscheint ein grösserer Gehalt an Alkali unnütz zu sein (Versuche 89—93).

---

Bei Beginn unserer Arbeiten hatten wir die Frage gestellt: «Lassen sich durch successive Einwirkung diastatischer Fermente auf Nahrungs- und Futtermittel die stickstofffreien Stoffe (excl. Fett) in einen verdaulichen und unverdaulichen Theil in der Weise zerlegen, dass dies Verfahren zu einer **quantitativen** Bestimmung der verdaulichen N-fr. Stoffe dienen kann?» Auf diese und einige sich daran anknüpfende Fragen glauben wir durch unsere Versuche folgende Antworten und Resultate erhalten zu haben:

Die in Nahrungs- und Futtermitteln enthaltenen organischen N-fr. Stoffe (excl. Fett) lassen sich durch Einwirkung von Fermenten ausserhalb des lebenden Organismus in lösliche und unlösliche (verdauliche und unverdauliche) Bestandtheile quantitativ trennen. —

Die Erreichung des Optimums der Wirkung geschieht durch successive Einwirkung von Ptyalin, Pepsin und Pankreas auf die zu untersuchende Substanz.

An Stelle von Ptyalin kann Malzdiastase verwendet werden und empfiehlt sich im Allgemeinen die Benutzung von Malzdiastase, weil diese überall leicht zu beschaffen ist, während grössere Mengen Ptyalin in guter Qualität oft schwer zu erhalten sind. —

Die Resultate der künstlichen Verdauung der Kohlehydrate können mit denjenigen der natürlichen Verdauung

im lebenden Organismus nicht übereinstimmen, weil bei dem künstlichen Versuch nur die sogenannten ungeformten Fermente das Maximum ihrer Wirkung entfalten, während bei der «natürlichen» Verdauung ausserdem die im Darm enthaltenen Bakterien und sonstigen Mikroorganismen eine Lösung solcher Kohlehydrate bewirken, welche durch Einwirkung ungeformter Fermente unlöslich bleiben. —

Nachdem erwiesen ist, dass die im lebenden Körper verdaute Holzfaser (Cellulose etc.) einen erheblich geringeren Werth als Nährstoff hat, wie andere Kohlehydrate — vielleicht sogar völlig werthlos ist —, dürften durch die «künstliche» Verdauung der Kohlehydrate wichtige Anhaltspunkte zur Werthschätzung der Nahrungs- und Futtermittel zu erhalten sein und jedenfalls viel bessere, wie durch die bis jetzt übliche Bestimmung der Holzfaser. Wir gestatten uns daher den Vorschlag zu machen, in Zukunft bei Untersuchungen von Nahrungs- und Futtermitteln die Holzfaser (Rohfaser, Cellulose) nicht mehr zu bestimmen, sondern statt dessen die künstliche Verdauung der Kohlehydrate vorzunehmen.

# Ueber die Entbindung freien Stickstoffs bei der Fäulniss und Nitrification.

Von

**Dr. O. Kellner** (Referent) und **T. Yoshii.**

(Der Redaction zugegangen am 16. August 1887.)

Bei Untersuchungen über die Veränderungen wasserhaltiger Futtermittel beim Einsäuern in Mieten unter Anwendung von Gefässen mit luftdichtem Verschluss hatte ich früher beobachtet[1]), dass neben einer tiefeingreifenden Zersetzung der Eiweissstoffe sehr bedeutende Verluste an gebundenem Stickstoff auftreten, und auch bei späteren Arbeiten von M. Märcker[2]), J. König[3]), A. Stutzer[4]), Ad. Mayer[5]), J. Fittbogen[6]), H. Weiske[7]) u. A. war dasselbe Ergebniss zu Tage getreten. Als ich dann vor 3 Jahren in Gemeinschaft mit J. Sawano das Zustandekommen dieser befremdlich hohen Verluste, welche bis zu 25% des angewandten Stickstoffs betrugen, näher studirte[8]), stellte sich heraus, dass dieselben nur scheinbare waren: beim Trocknen des gesäuerten Materials zum Zweck der chemischen Analyse wird trotz der Gegenwart eines grossen Ueberschusses freier, nicht flüchtiger organischer Säuren Ammoniak durch Dissociation in Freiheit gesetzt und an die Luft abgegeben. Das beim

1) Landw. Versuchsstationen, 25. Bd. (1880), S. 447.
2) Journal f. Landwirthschaft, 30. Bd., S. 413.
3) Biedermann's Centralbl. f. Agriculturchemie, 13. Jahrg., S. 677.
4) Ebendaselbst, S. 679.
5) Journal f. Landw., 32. Bd., S. 357.
6) Landw. Jahrbücher, 13. Bd., S. 291,
7) Journal f. Landw., 32. Bd., S. 81.
8) Landw. Vers.-Stat., 32. Bd. (1885), S. 57.

Trocknen entweichende Ammoniak deckte sich vollkommen mit dem vermeintlichen Stickstoffdeficit. Es liess sich also unseren Untersuchungen der Schluss entnehmen, dass bei der durch Milchsäure-Ferment hervorgerufenen Gährung wasserreicher organischer Substanzen unter Luftabschluss eine Entbindung freien Stickstoffs nicht stattfindet.

Bei der Ausführung dieser Arbeiten hatten wir bemerkt, dass zugleich mit dem Ammoniak aus den gegohrenen Substanzen flüchtige Säuren an die Luft abgegeben werden und man deshalb das entweichende Ammoniak nicht einfach durch Auffangen in Säuren und Titration bestimmen kann. Da letztere Methode jedoch thatsächlich bei einer Anzahl von Fäulnissversuchen in Anwendung gekommen ist und somit zu kleinen Fehlern, die dann als Stickstoffverlust gedeutet werden, Veranlassung gegeben haben kann, — da ferner die bei Beginn unserer Arbeiten vorliegenden Untersuchungen über die Entbindung freien Stickstoffs bei der Fäulniss nicht einwurfsfrei waren, wie ja die kürzlich erschienene Arbeit von A. Ehrenberg[1]) in ihrem historischen Theil zur Genüge nachweist, so habe ich in Gemeinschaft mit T. Yoshii es versucht, einige Beiträge zur Lösung dieser wichtigen Frage zu liefern. Wir haben dabei unsere Aufmerksamkeit insbesondere auch auf die Nitrification gerichtet.

Zu den ersten Versuchen wurden feingemahlene Sojabohnen, Milch und Fischmehl verwendet und die Fäulniss durch Zusatz von 10 cbcm. gefaultem Harn eingeleitet; die Bohnen und das Fischmehl, 20 gr. für je einen Versuch, wurden ausserdem mit je 33 cbcm. Wasser angefeuchtet. Zu einigen dieser Gemische war Gips als ammoniakbindendes Mittel in geringen Mengen zugesetzt worden. Die Mischung der Substanzen wurde in kleinen weithalsigen Fläschchen vorgenommen und letztere mit paraffinirten Kautschukstopfen verschlossen, welche je 2 gekrümmte Glasröhren trugen, durch deren eine das Innere des Gefässes mit einer titrirte Schwefelsäure enthaltenden Vorlage in Verbindung stand; die andere

[1]) Diese Zeitschrift, 11. Bd. (1887), S. 145—155.

Röhre, das Gaszuleitungsrohr, sowie die Vorlage waren mit kleinen Gaswaschflaschen verbunden, welche mit Schwefelsäure gefüllt, den Eintritt atmosphärischer Stickstoffverbindungen verhinderten. In 3tägigen Zwischenräumen wurden durch jedes Gefäss und die damit verbundenen Apparate langsam 2 Liter Luft getrieben. Für qualitative Prüfungen wurde eine Anzahl gleicher Mischungen zur selben Zeit angesetzt und mit Baumwolle lose verschlossen gehalten; dieselben dienten zur Beobachtung über die Veränderung der Reaction und über das etwaige Auftreten von salpetriger oder Salpetersäure. Die Versuche begannen am 4. März 1885 und wurden beendet in der Zeit vom 5.—11. Mai.

## Versuchsreihe I.

### a) Sojabohnen.

Angewandte Substanzen:

1. 20 gr. Bohnen, 10 cbcm. Harn und 33 cbcm. Wasser.
2. Dieselbe Mischung + 2,5 gr. Gips.
3. Dieselbe Mischung wie No. 2.

Stickstoffgehalt:

| | |
|---|---|
| 20 gr. Bohnen = 19,154 gr. wasserfreie Substanz mit 4,255 % N. . . . . . . . . . . . . . | = 0,8150 gr. N. |
| 10 cbcm. gefaulter Harn . . . . . . . . . . . . | = 0,0208 » » |
| Gesammt-N vor der Fäulniss | = 0,8358 gr. |

Nach der Fäulniss hatten die Mischungen eine schwach saure Reaction und einen höchst unangenehmen Geruch. Sie waren mit einem dicken Mycel von Schimmelpilzen überzogen und in eine breiige Masse verwandelt. Nitrification war nicht eingetreten. Nach dem Befeuchten mit starker Salzsäure wurde die Substanz eingetrocknet, pulverisirt und der Stickstoffbestimmung (durch Verbrennen mit Natronkalk) unterworfen, wobei folgende Ergebnisse erhalten wurden:

| | 1. | 2. | 3. |
|---|---|---|---|
| Dauer der Fäulniss, Tage . . . . . . | 62 | 65 | 68 |
| Lufttrockene Substanz in gr. . . . . . . | 15,1555 | 18,2325 | 17,9820 |
| Darin Stickstoff in % . . . . . . . . | 5,546 | 4,733 | 4,746 |
| » » » gr. . . . . . . . . | 0,8405 | 0,8629 | 0,8534 |
| Stickstoff in der Vorlage . . . . . . | 0 | 0 | 0 |
| Mehr (+) oder weniger (—) als angewandt | + 0,0047 | + 0,0271 | + 0,0176 |

### b) Milch.

Zu jedem Versuch wurden 50 cbcm. fettarme Milch mit einem Stickstoffgehalt von 0,494 % abgewogen und No. 1 nur mit 10 cbcm. gefaultem Harn, No. 2 und 3 noch mit je 1 gr. Gips versetzt. Nachdem No. 1 69, No. 2 71 und No. 3 74 Tage gefault hatten, war die Mischung ganz missfarbig geworden, zeigte jedoch keine Mycelbildung auf der Oberfläche und hatte eine schwach saure Reaction angenommen. Salpetrige oder Salpetersäure war weder während des Verlaufs, noch am Schluss des Versuchs nachweisbar. Die gefaulte Milch wurde unter Zusatz von Salzsäure auf ausgeglühtem Gips zur Trockne gebracht und mit Natronkalk verbrannt. Die Resultate sind in Nachstehendem verzeichnet:

| | 1. | 2. | 3. |
|---|---|---|---|
| Angewandt frische Milch in gr. . . . . | 51,612 | 51,158 | 51,862 |
| Darin Stickstoff in gr. . . . . . . . | 0,2553 | 0,2537 | 0,2562 |
| In 10 cbcm. Harn Stickstoff in gr. . . | 0,0208 | 0,0208 | 0,0208 |
| Gesammt-N vor der Fäulniss | 0,2761 | 0,2745 | 0,2770 |

Nach der Fäulniss:

| | 1. | 2. | 3. |
|---|---|---|---|
| Lufttrockene Substanz incl. Gips in gr. . | 11,823 | 20,1175 | 19,589 |
| Darin Stickstoff in % . . . . . . . . | 2,353 | 1,361 | 1,443 |
| Stickstoff in der Vorlage . . . . . . | 0 | 0 | 0 |
| Gesammt-N nach der Fäulniss . . . . | 0,2781 | 0,2738 | 0,2827 |
| Mehr (+) oder weniger (—) als angewandt | + 0,0020 | — 0,0007 | + 0,0057 |

### c) Fischmehl.

Für jeden der beiden Versuche wurden je 20 gr. Fischmehl (fein gemahlene getrocknete Sardinen), 10 cbcm. gefaulter Harn und 33 cbcm. Wasser verwendet; zu der Mischung No. 2 wurden noch 2,5 gr. Gips zugesetzt. Nach 79tägigem Faulen hatte die Mischung eine alkalische Reaction angenommen und war sehr stark zersetzt.

Die Luft, welche durch den Apparat getrieben wurde, hatte trotz ihres Durchganges durch die Vorlage und Waschflasche bei ihrem Austritt noch einen starken fauligen Geruch. Die Prüfungen auf Salpeter- und salpetrige Säure ergaben auch hier nur negative Resultate.

Der Stickstoffgehalt der angewandten Substanzen war folgender:

| | |
|---|---|
| In 20 gr. lufttrockenem Fischmehl (16,449 gr. Trockensubstanz mit 13,570 % N)[1] | 2,2321 gr. |
| In 10 cbcm. gefaultem Harn | 0.0208 » |
| Gesammt-N vor der Fäulniss | 2,2529 gr. |

Die gefaulte Substanz wurde zunächst mit Salzsäure angesäuert, mit salzsäurehaltigem Wasser extrahirt, das Filtrat auf 500 cbcm. gebracht, je 100 cbcm. in Hoffmeister'schen Glasschälchen eingedampft und der Stickstoff nach Kjeldahl's Methode bestimmt. Der gesammte Rückstand mitsammt dem Filter wurde getrocknet, ebenfalls nach Kjeldahl's Verfahren oxydirt, die dabei erhaltene Lösung auf 500 cbcm. verdünnt und der Stickstoff in je 100 cbcm. durch Destillation bestimmt. Hierbei wurde gefunden:

| | | |
|---|---|---|
| N im ungelösten Rückstand | 0,1446 gr. | 0,1337 gr. |
| N im Filtrat | 2,0782 » | 2,0952 » |
| N in der Vorlage | 0,0078 » | 0,0031 » |
| Gesammt-N nach der Fäulniss | 2,2306 gr. | 2,2320 gr. |
| Weniger als vor der Fäulniss | 0,0223 » | 0,0209 » |

In keinem der angeführten 8 Fälle hatte sich ein irgendwie erheblicher Stickstoffverlust bemerkbar gemacht, obwohl überall die Fäulniss sehr weit vorgeschritten, zum Theil unter Schimmelbildung, zum Theil ohne solche, und offenbar in sehr verschiedener Richtung erfolgt war, indem die Endreaction in einigen Mischungen (Bohnen, Milch) schwach sauer, in anderen (Fischguano) alkalisch war. Die grössten Differenzen, welche auf der Verlustseite liegen, betragen weniger als ein Procent; in einigen Fällen (Bohnen, No. 2 und 3) macht sich eine kleine Zunahme (bis zu 3 %) bemerkbar, welche ich jedoch keineswegs im Sinne Dehérain's oder Berthelot's deuten möchte. — Nitrification war in keinem der Versuche beobachtet worden, ein Umstand, der angesichts der B. Dietzell'schen Hypothesen über den Process der Entbindung freien Stickstoffs bei der Fäulniss von Wichtigkeit ist.

---

[1]) Nach Kjeldahl's Methode bestimmt.

Eine zweite Versuchsreihe hatte den Zweck, festzustellen, ob bei der Fäulniss mit nachfolgender Nitrification ein Verlust an gebundenem Stickstoff eintritt. Da die salpetrige Säure am leichtesten mit Amidosäuren freien Stickstoff entwickelt, so benützten wir für einen Theil dieser Versuche Asparagin. Ein anderer Theil derselben wurde wiederum mit Sojabohnen ausgeführt. Zur Einleitung der Fäulniss wurde auch diesmal gefaulter Harn benützt, und um nitrificirendes Ferment in die Mischung einzuführen, wurde einem Theil der Versuche an der Luft getrockneter, fein gesiebter Ackerboden aus der obersten Schicht der Krume zugesetzt. Im Uebrigen war die Ausführung der Versuche dieselbe wie früher, nur wurden diesmal die Gefässe zur Abhaltung des Lichtes, welches der Nitrification ungünstig ist, in schwarzes Glanzpapier gehüllt und sämmtliche Bestimmungen nach der Kjeldahl'schen Methode ausgeführt.

Folgende Grundmischungen wurden am 5. October 1885 in die oben beschriebenen Apparate gefüllt:

### Versuchsreihe II.

a) 2 gr. Asparagin + 20 gr. Wasser + 2 cbcm. gefaulter Harn.
b) 20 » Sojabohnen + 20 » » + 2 « » »

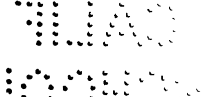
Hierzu kamen die nachstehenden Zusätze:

| A. Asparagin. | B. Bohnen. |
|---|---|
| No. 1. ohne Zusatz. | No. 1. ohne Zusatz. |
| » 2. 1 gr. Gips. | » 2. 2,5 gr. Gips. |
| » 3. 1 » Calciumcarbonat. | » 3. 2,5 » Calciumcarbonat. |
| » 4. 1 » Gips + 1 gr. Boden. | » 4. 2,5 » Gips + 1 gr. Boden. |
| » 5. 1 » Calciumcarbonat + 1 gr. Boden. | » 5. 2,5 » Calciumcarbonat + 1 gr. Boden. |

Ausserdem erhielt noch jede Mischung der Reihe a 0,004 gr. Monocalciumphosphat, 0,2 gr. präcipitirtes Tricalciumphosphat und 0,004 gr. Magnesiumsulfat, um die Entwicklung der organisirten Fermente sicher zu stellen[1]).

---

[1]) Vergl. R. Warington, On nitrification. Journal of the Chem. Society, London, 45. Bd, S. 637.



Eine Anzahl gleicher Mischungen diente, wie früher, zu Prüfungen auf die Reaction und den Eintritt der Nitrification.

Das Asparagin löste sich durch die Fäulniss allmälig auf und wurde zersetzt, die Lösungen färbten sich schnell dunkelbraun mit Ausnahme derjenigen, welche Gips erhalten hatten; letztere nahmen zunächst nur einen gelblichen Farbenton an, der nur allmälig in Braun überging. Nach ungefähr 2 Monaten hatte sich eine schleimige Decke auf den Lösungen gebildet, aber auch hier wirkte der Gips verzögernd. Die Reaction wurde in allen Fällen sehr bald schwach alkalisch und blieb so bis zum Schluss der Versuche. Bei den Bohnen machte sich der Fäulnissprocess ebenfalls sehr rasch bemerkbar, doch traten diesmal Schimmelpilze nicht besonders hervor. Es bildete sich langsam eine schwach saure Reaction aus, welche bis zum Schluss des Versuchs bestehen blieb.

Nach mehrfachen Beobachtungen Anderer[1]) war eine Bildung von Salpeter- oder salpetriger Säure in den an organischer Substanz so reichen Sojabohnen nicht zu erwarten. Dagegen hatten wir gehofft, durch Zusatz nitrificirenden Fermentes (Boden) in den Asparaginlösungen eine rasche Nitrification hervorzurufen. Als aber nach 5 Monaten — vielleicht in Folge ungeeigneter Beschaffenheit unseres Bodens, wahrscheinlicher aber in Folge der zu starken Concentration der entstandenen Ammoniaksalze — die Reactionen mit Diphenylamin und Metaphenylendiamin noch immer negative Resultate ergaben, so entschlossen wir uns, die Versuche abzubrechen und eine neue Reihe unter besseren Bedingungen für die Nitrification zu beginnen. Die gefaulten Substanzen der Versuchsreihe II wurden in folgender Weise analysirt:

Der Inhalt der mit Asparagin beschickten Gefässe wurde zunächst innerhalb der letzteren mit Kalkmilch vermischt und das entweichende Ammoniak nach Schlösing bestimmt. Der Rückstand wurde mit Schwefelsäure versetzt, in Glasschälchen getrocknet und der Stickstoffbestimmung unter-

---

[1]) Z. B. J. König, Landw. Versuchsstationen, 30. Bd. (1884), S. 431, und A. Morgen, ebendaselbst, S. 203.

worfen. — Die gefaulten Bohnen wurden sofort mit Schwefelsäure und darauf mit einer grossen Menge gebranntem Gips versetzt, in Schälchen eingetrocknet, pulverisirt und nach Kjeldahl behandelt. In die Vorlagen war kein Ammoniak übergegangen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Nachstehendem verzeichnet:

### A. Asparagin[1]).

Stickstoff vor der Fäulniss:

| | No. 1. | 2. | 3. | 4. |
|---|---|---|---|---|
| In 2 gr. Asparagin . | 0,3744 gr. | 0,3744 gr. | 0,3744 gr. | 0,3744 gr. |
| In 2 cbcm. Harn . . | 0,0164 » | 0,0164 » | 0,0164 » | 0,0164 » |
| In 1 gr. Boden . . . | — » | — » | — » | 0,0066 » |
| Gesammt-N . | 0,3908 gr. | 0,3908 gr. | 0,3908 gr. | 0,3974 gr. |

Stickstoff nach der Fäulniss:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Durch Aetzkalk ausgetrieben . . . . . | 0,0447 gr. | 0,0370 gr. | 0,0254 gr. | 0,1868 gr. |
| Im Rückstande . . . | 0,3446 » | 0,3548 » | 0,3647 » | 0,2127 » |
| Gesammt-N . | 0,3893 gr. | 0,3918 gr. | 0,3899 gr. | 0,3995 gr. |
| Mehr (+) oder weniger (—) als angewandt | —0,0015 » | +0,0010 » | —0,0009 » | +0,0021 » |

### B. Bohnen.

Stickstoff vor der Fäulniss:

| | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. |
|---|---|---|---|---|---|
| In 20 gr. Bohnen | 0,8291 gr. | 0,8291 gr. | 0,8291 gr. | 0,8291 gr, | 0,8291 gr. |
| In 2 cbcm. Harn | 0,0164 » | 0,0164 » | 0,0164 » | 0,0164 » | 0,0164 » |
| In 1 gr. Boden. | — » | — » | — » | 0,0066 » | 0,0066 » |
| Gesammt-N . | 0,8455 gr. | 0,8455 gr. | 0,8455 gr. | 0,8521 gr. | 0,8521 gr. |
| Stickstoff nach der Fäulniss . | 0,8459 » | 0,8426 » | 0,8431 » | 0,8531 » | 0,8531 » |
| Mehr (+) oder weniger (—) als angewandt | +0,0004 » | —0,0029 » | —0,0024 » | +0,0010 » | +0,0010 » |

Sämmtliche vorgeführte Versuche beweisen in Uebereinstimmung mit den Arbeiten von J. König[2]) und A. Morgen[3]),

[1]) No. 5 dieser Reihe verunglückte bei der Bestimmung.
[2]) J. König, Der Kreislauf des Stickstoffs, (Münster) 1878, S. 19.
[3]) Landw. Versuchsstationen, 30. Bd., S. 213.

dass bei der Fäulniss nitrat- und nitritfreier Medien in Gegenwart von reichlichen Wassermengen eine Entbindung freien Stickstoffs nicht stattfindet. Die Frage, ob elementarer Stickstoff aus faulenden wasserarmen Gemischen entbunden werden kann, ist bekanntlich zuerst von J. König aufgeworfen und bejaht worden; er fand in einem Gemisch von 250 gr. Knochenmehl und 500 gr. Boden bei einer Wasserzufuhr von 600 cbcm., d. i. bei einem Wassergehalt der ganzen Mischung von ca. 50 %, keinen Stickstoffverlust, bei Zusatz von 300 cbcm., d. i. ca. 30 % Wasser im Gemisch, jedoch ein Deficit von 5,48 % des angewandten Stickstoffs nach 8monatlichem Faulen. Im gleichen Sinne, wie König, und unabhängig von demselben ausserte sich auch später Morgen auf Grund eigener Versuche. Beide nehmen an, dass bei unzureichender Feuchtigkeit der faulenden Medien dem Sauerstoff Zutritt zu der porösen stickstoffhaltigen Substanz gestattet und das Ammoniak oxydirt würde, wobei Wasser und freier Stickstoff entstehen. Diese Auffassung erhielt kürzlich[1]) eine wesentliche Stütze in einer Angabe J. König's, nach welcher in ganz verdünnten Ammoniaklösungen (0,7 pro Mille) Oxydation stattfände, wenn dieselben auf grosse Flächen (Asbest, Filtrirpapier) vertheilt werden.

Eine Oxydation des Ammoniaks wird nun bekanntlich auch noch durch einen niederen Organismus vermittelt, namentlich in solchen Fällen, in denen die gleichzeitig anwesenden Kohlenstoffverbindungen den Sauerstoff nicht mehr ausschliesslich für sich in Anspruch nehmen. In faulenden organischen Substanzen können daher diese Organismen gewöhnlich erst dann nitrificirend wirken, wenn die organische Substanz grösstentheils zerstört ist, wie aus den Arbeiten von Alex. Müller[2]) und R. Warington[3]) hervorgeht. Vielleicht könnte die Nitrification jedoch schon nahe an der Oberfläche faulender Medien einsetzen, wo in Folge unbeschränkterer Sauerstoffzufuhr die Zersetzung rasch voran-

[1]) Landw. Versuchsstationen, 33. Bd., S. 467.
[2]) Ebendaselbst, 32. Bd. (1884), S. 285.
[3]) Journal of the Chem. Society, (London), 1884, 35. Bd., S. 667.

schreitet, während in tieferen Schichten noch reichliche Mengen fäulnissfähiger Substanzen vorhanden sein können. Ein solcher Process könnte aber sehr wohl Platz greifen in Gemischen fester oder schwer löslicher Stoffe bei beschränktem Wasserzusatz, z. B. im natürlichen Ackerboden, in welchem ja in der That die Luft der tieferen Schichten zumeist ärmer an Sauerstoff ist als nahe der Oberfläche.

Auf welchem Wege die Oxydation des Ammoniaks auch immer erfolgen mag, eine Grundbedingung derselben wird immer die Abwesenheit solcher organischer Substanzen sein, die eine stärkere Affinität zum Sauerstoff haben als das Ammoniak oder das nitrificirende Ferment. Faulende organische Stoffe bedürfen daher zumeist einer beträchtlichen Zeit, bevor in ihnen eine Oxydation des Ammoniaks eintreten kann. Diese Verhältnisse scheinen mir der Grund dafür zu sein, dass A. Ehrenberg in seinen mit so rühmlicher Sorgfalt ausgeführten Untersuchungen auch bei Anwendung sehr poröser wasserarmer Medien in einer Sauerstoffatmosphäre keine Entwicklung elementaren Stickstoffs beobachten konnte, wogegen B. Dietzell mit denselben Gemischen, aber nach einer Fäulnissdauer von etwa 12 Monaten, Verluste fand, die unter Umständen 15% des angewandten Stickstoffs betrugen. Ehrenberg's Versuche dauerten eben höchstens etwa 6 Wochen. Zwar giebt der letztgenannte Forscher in der Beschreibung der mit automatischer Nachfüllung von Sauerstoff ausgeführten Versuche (No. VII, VIII und IX) an, dass am Schluss derselben der Sauerstoffverbrauch fast Null war, bezw. gänzlich aufhörte, doch bezieht sich dies offenbar nur auf den Uebertritt von Sauerstoff aus dem Gasometer in das mit dem Fäulnissgemisch beschickte Gefäss und nicht auf die wirkliche Sauerstoffaufnahme durch die faulende Substanz. Der Eintritt von Sauerstoff in die sich zersetzenden Stoffe und die Ausgabe von Kohlensäure können sich ja nach einer gewissen Frist so compensiren, dass das Gasvolumen in dem Zersetzungsgefäss nicht geändert wird, trotzdem der Fäulnissprocess noch lebhaft vor sich geht. Es besteht sonach ein fundamentaler Unterschied zwischen den Versuchen Dietzell's

und Anderer und den Ehrenberg's; während der Erstere seine Mischungen soweit faulen liess, dass die Zersetzung die Grenze des Möglichen wohl erreicht haben kann, schloss der Letztere seine Untersuchungen weit vor diesem Zeitpunkte ab. — Aus den Dietzell'schen Gesammtverlusten berechnete Ehrenberg[1]), dass er bei Anwendung gleicher Gemische sehr bedeutende Gasvolumina pro Woche zu erwarten hatte, welche bei seiner gasanalytischen Behandlung der Frage unmöglich zu übersehen waren. Aus meinen obigen Auseinandersetzungen dürfte indessen hervorgehen, dass eine solche Rechnung auf nicht zutreffenden Annahmen beruht. Wollte man die Dietzell'schen Resultate auf ihre Richtigkeit prüfen, so würde es sich bei Anwendung gasanalytischer Methoden empfehlen, die Fäulnissgemische während des Beobachtungsjahres nur periodenweise auf die Entwicklung freien Stickstoffs zu untersuchen.

Die Beobachtungen Ehrenberg's, sowie auch die von uns ausgeführten oben beschriebenen Versuche beweisen sicherlich, dass die Träger der echten Fäulniss elementaren Stickstoff nicht in Freiheit zu setzen vermögen. Man würde sich aber auf unrechtem Wege befinden, wollte man auf Grund dieses Resultates sämmtliche älteren Versuche, die ein Stickstoffdeficit ergaben, verwerfen oder gegen dieselben den Vorwurf erheben, sie seien nach unzulänglichen analytischen Methoden ausgeführt worden. Nicht die echte Fäulniss, sondern Vorgänge secundärer Natur, zu denen die Bedingungen nicht immer gegeben, sind nach Lage der bisherigen Forschungsergebnisse als die Ursachen der Entbindung freien Stickstoffs aufzufassen.

Von diesem Gesichtspunkte aus sind folgende Processe zur Erklärung beobachteter Stickstoffverluste heranzuziehen, resp. theilweise bereits herangezogen worden:

1. Die Oxydation des Ammoniaks durch den Sauerstoff der Luft, welche von J. König[2]) als die

---

[1]) A. a. O., S. 155.

[2]) J. König, Der Kreislauf des Stickstoffs, Münster (1878), S. 19.

Ursache der von ihm gefundenen Stickstoffverluste angesprochen, jedoch bereits früher schon von Th. Schlösing[1]) in demselben Sinne gedeutet worden ist. Letzterer nahm an, dass «die Verbrennung organischer Substanzen begleitet ist von einem Verlust an Stickstoff, mag derselbe erfolgen auf Kosten der Luft, wie in den Versuchen von Boussingault, oder auf Kosten der Nitrate, des Eisenoxyds oder des Sauerstoffs der Substanz selbst». Wie bereits bemerkt, kann diese Oxydation des Ammoniaks natürlich nur stattfinden, wenn organische, mit stärkerer Affinität zum Sauerstoff begabte Substanzen nicht mehr anwesend sind.

2. Die Nitrification durch organisirte Fermente kann vielleicht in derselben Weise, wie die Oxydation des Ammoniaks durch den Sauerstoff der Luft, direct von einer Entbindung freien Stickstoffs begleitet sein. Es dürfte indessen schwierig sein, diesen Process von dem sub 3 erwähnten experimentell auseinander zu halten.

3. Die Einwirkung freier salpetriger Säure auf stickstoffhaltige organische Verbindungen, ein Vorgang, den B. Dietzell[2]) annimmt. Nitrite sollen nach ihm bereits durch Kohlensäure unter Bildung freier salpetriger Säure zerlegt werden.

4. Die Reduction von Nitraten und Nitriten durch organische Substanzen liefert nach Th. Schlösing und älteren Autoren[3]) je nach der Natur des Mediums ein variables Gemisch von Stickstoff, Stickoxydul und Stickoxyd; Dehérain und Maquenne[4]) erhielten bei Versuchen mit Boden unter Luftabschluss Stickstoff und Stickoxydul, Tacke[5]) bei gährenden organischen Stoffen unter Salpeterzusatz freien Stickstoff und Stickoxyd; Ehrenberg beobachtete bei Sauerstoffabschluss und Zusatz von Salpeter jedoch weder eine

---

[1]) Jahresbericht f. Agriculturchemie, 16. u. 17. Jahrg. (1873), S. 116.

[2]) Biedermann's Centralbl. f. Agriculturchemie (1882), 11. Jahrgang, S. 417.

[3]) Jahresbericht f. Agriculturchemie (1873), 16. Bd, S. 115.

[4]) Der Naturforscher, 15. Jahrg. (1882), S. 473.

[5]) Tagebl. d. Naturf.-Vers. zu Berlin (1886), S. 290.

Entwicklung von Stickstoff, noch gasförmiger Oxyde desselben, sondern konnte nur eine Reduction der Nitrate zu Ammonsalzen nachweisen.

5. Eine spontane Zersetzung von Ammoniumnitrit in verdünnten Lösungen, ähnlich derjenigen, welche das feste Salz beim Erwärmen erfährt.

Da eine Anzahl dieser Vorgänge selbst, sowohl als ihre Betheiligung an dem Zustandekommen eines Stickstoffdeficits durchaus hypothetischen Charakters sind, so haben wir einige derselben in den Bereich unserer Untersuchungen gezogen.

Ob der Nitrificationsprocess als solcher mit einem Verlust an gebundenem Stickstoff verknüpft ist, lässt sich aus den Angaben der Literatur über diesen Gegenstand nicht mit Sicherheit schliessen. Boussingault[1]), der mit Boden operirte, fand eine Ackererde, die 11 Jahre in einem grossen Volumen Luft eingeschlossen war, das man nicht erneuerte, stark salpeterhaltig geworden. «Die Gesammt-Menge an Stickstoff jedoch, welche am Anfang und am Ende der Beobachtung bestimmt wurde, hatte sich nicht merkbar verändert; die Analysen schienen sogar anzuzeigen, dass dieselbe in der salpeterhaltigen Erde um ein Geringes vermindert war.» In einem Gemisch (100 gr. Erde und 300 gr. Sand) waren von 0,4722 gr. N nach den 11 Jahren 0,0202 gr. verschwunden, in einem anderen (100 gr. Erde, 300 gr. Sand und 5 gr. Cellulose) betrug der Verlust nur 0,0082 gr. von der gleichen Menge (0,4722 gr.) angewandeten Stickstoffs; dabei hatte sich die Salpetersäure von 0,0029 gr. auf 0,6178 bezw. 0,5620 gr. vermehrt. — Einige quantitative Bestimmungen in Flüssigkeiten (Salmiaklösungen), welche, der Nitrification unterworfen, zuerst starke Reaction auf salpetrige Säure gaben und am Schluss kein Ammoniak und als Oxydationsproduct nur Salpetersäure erkennen liessen, erhielt R. Warington[2]) von dem in Form von Ammoniak angewandten Stickstoff 96,7 — 95,1 — 94,9 - 92,9 Procent in der Form von Salpetersäure

---

1) Compt. rend., 82. Bd. (1876), S. 447.

2) A. a. O., 35. Bd. (1879), S. 449.

wieder. Was aus dem übrigen Theil des Stickstoffs geworden war, lässt der genannte Forscher unentschieden und weist nur darauf hin, dass wenigstens eine geringe Menge der stickstoffhaltigen Substanz in die Constitution der Mikroorganismen eingetreten sein musste. — Eine fast vollständige Umwandlung von verdünntem Ammoniak, das mit Holzasche und Essigsäure versetzt und mit nitrificirendem Ferment inficirt war, in Salpetersäure ohne Stickstoffverlust beobachtete Alex. Müller[1]), der wohl überhaupt als der Erste die Betheiligung der kleinsten Organismen an den Nitrificationsprocess erkannt hat[2]). Er legt jedoch selbst ausdrücklich seinem Versuch eine absolute Beweiskraft nicht bei.

Unsere Versuche wurden mit verdünntem filtrirtem frischem Menschenharn (20 cbcm. + 480 cbcm. Wasser) ausgeführt und das nitrificirende Ferment in der Form an der Luft getrockneter fein gesiebter Ackererde (10 gr. pro Versuch) zugesetzt. Die Mischung wurde in cylindrischen Flaschen vorgenommen, die mit Korken und Paraffin verschlossen und mit Vorlagen zur Abhaltung atmosphärischer Stickstoffverbindungen, sowie zum Auffangen etwa entweichenden Ammoniaks verbunden waren. Jede Woche wurden etwa 3 Liter Luft durch den Apparat und die Flüssigkeit getrieben. Nach 5 Monaten, Anfang April 1887, wurden in einem zur Controlle aufgestellten gleichen Gefäss die ersten Spuren von salpetriger und sehr bald auch Salpetersäure nachgewiesen. Die Nitrification ging darnach mit grosser Intensität von Statten. Nach 6 Monaten wurde der Stickstoffgehalt in einem der Gefässe bestimmt. Bei der Beschreibung der dabei befolgten Methoden muss ich etwas weiter ausholen.

Bei Untersuchungen über den Gehalt verschiedener Pflanzen an stickstoffhaltigen, nicht-eiweissartigen Substanzen hatte ich gefunden[3]), dass die Gegenwart von Salpetersäure beim Eindampfen an sich saurer oder angesäuerter Pflanzensäfte zu Stickstoffverlusten Veranlassung geben kann, indem

---

[1]) Landw. Vers.-Stat., 32. Bd. (1884), S. 285.

[2]) Ebendaselbst, 16. Bd. (1873), S. 263.

[3]) Ebendaselbst, 24. Bd. (1879), S. 447.

hierbei leicht salpetrige Säure entsteht, welche alsdann mit den stets vorhandenen Amidosubstanzen in Wechselwirkung tritt, — eine Beobachtung, die auch später von U. Kreusler[1]) bei Anwendung von Gemischen von Asparaginsäure, Kalisalpeter und Essigsäure etc. bestätigt wurde. Der störende Einfluss, den Nitrate und Nitrite auch bei der Bestimmung des Stickstoffs nach Will-Varrentrapp und Kjeldahl hervorrufen, lässt sich, wie ich damals nachwies, umgehen durch reichlichen Zusatz von Eisenchlorür, darauffolgendes Ansäuern mit Salzsäure und Eindampfen der Lösung, bezw. Trocknen der Substanz; in dem Rückstande kann man alsdann den Stickstoff, excl. des in der Salpetersäure enthaltenen Betrages, nach einfachen Methoden bestimmen. Bei einer Prüfung dieses Verfahrens an Mischungen von Asparaginsäure und Salpeter erhielt Kreusler[2]) indessen vor einiger Zeit unbefriedigende Resultate. Es ist um so befremdender, als der genannte Forscher in einem anderen Theil seiner Arbeit den Nachweis führt, dass Amidosubstanzen, selbst wenn in erheblicher Menge vorhanden und von sonstigen organischen Stoffen (Zucker) begleitet, die Genauigkeit der Salpetersäurebestimmung nach dem Schlösing-Tiemann'schen Verfahren kaum merklich beeinflussen. Auch nach E. Bosshard[3]) bedingt die Anwesenheit von Amiden keinen Fehler bei der Ermittlung des Salpetersäure-Stickstoffs. Nun beruht aber mein Vorschlag zur Entfernung der Salpetersäure aus amidhaltigen Flüssigkeiten auf genau demselben Princip, wie die Schlösing-Tiemann'sche Methode, nämlich auf der Reduction der Salpetersäure zu Stickoxyd durch Eisenchlorür. Würden bei

---

1) Landw. Vers.-Stat., 31. Bd. (1884), S. 292.

2) Ebendaselbst, S. 293. Nach der Entfernung der Salpetersäure durch Eisenchlorür und Salzsäure bediente sich Kreusler der Sachsse-Kormann'schen Methode zur Bestimmung des in organischer Verbindung (Asparaginsäure) vorhandenen Stickstoffs. Das von mir in Vorschlag gebrachte Verfahren hatte nach meinen Angaben (a. a. O., S. 447) hauptsächlich den Zweck, pflanzliche Extracte so vorzubereiten, dass man dieselben unter Zusatz einer starken Säure durch Eindampfen zur Verbrennung mit Natronkalk tauglich machen honnte.

3) Landw. Vers.-Stat., 33. Bd. (1886), S. 144.

meinem Verfahren die Amidverbindungen in Mitleidenschaft gezogen, so dass Stickstoff in Freiheit gesetzt würde, dann müssten auch die Salpetersäurebestimmungen beeinflusst werden oder das zu messende Gas müsste — falls es mit dem nach der Theorie zu erwartenden Volumen Stickoxyd zufällig übereinstimmt — Beimengungen (Stickstoff) enthalten, die von Eisenvitriol-Lösungen nicht absorbirt werden. Nach Kreusler's Zahlenreihen war aber dieser nicht absorbirbare Gasrest bei Anwendung von Amiden und Kalisalpeter durchaus nicht grösser, als bei Bestimmungen mit reinem Salpeter.

Obgleich somit der Einwand Kreusler's gegen die früher von mir geübte Methode kaum zutreffend sein konnte, so haben wir es dennoch nicht unterlassen, dieselbe nochmals zu prüfen. In eine Reihe von Hoffmeister'schen Glasschälchen wurden je 3 gr. Eisenchlorür gebracht, mit starker Salzsäure versetzt, auf dem Wasserbade erhitzt und 5 cbcm. menschlicher Harn, welcher mit etwas Natronlauge alkalisch gemacht und darnach mit verschiedenen Mengen Kaliumnitrat und -Nitrit versetzt worden war, tropfenweise in die heisse Mischung des Schälchens gebracht. Nach dem Eindampfen und gelindem Trocknen wurde der Stickstoffgehalt in dem Rückstande nach Kjeldahl's Methode ermittelt und folgende Zahlen erhalten:

| | Zusatz: | N-Gehalt in 5 cbcm. Harn: |
|---|---|---|
| 1. | 0. . . . . . . . . . . . | 0,06038 gr. |
| 2. | 0. . . . . . . . . . . . | 0,06091 » |
| 3. | 0,1 gr. $KNO_3$ . . . . . . | 0,06025 » |
| 4. | 0,2 » » . . . . . . | 0,05997 » |
| 5. | 0,1 » $KNO_2$ . . . . . . | 0,06106 » |
| 6. | 0,2 » » . . . . . . | 0,05997 » |

Da diese Resultate eine recht befriedigende Uebereinstimmung unter einander zeigen und auch R. Warington[1]), ohne, wie es scheint, meinen früheren Vorschlag zu kennen, bei Befolgung derselben Methode zu brauchbaren Ergebnissen gekommen ist, so haben wir das in Rede stehende Verfahren bei der Untersuchung des Harns nach der Nitrification beibehalten.

---

1) Chemical News, 52. Bd. (1885), S. 163.

Je 100 cbcm. des Filtrates (s. w. o. S. 108) wurden in der angegebenen Weise von salpetriger und Salpetersäure befreit, eingedampft und nach Kjeldahl weiter behandelt. Zur Bestimmung der Nitrificationsproducte wurden je 100 cbcm. des Filtrats mit verdünnter Kalilauge stark alkalisch gemacht und eine Lösung von übermangansaurem Kali so lange zugesetzt, bis Entfärbung auch bei längerem Stehen nicht mehr eintrat; alsdann wurde die Mischung auf ein kleines Volumen gebracht und die Salpetersäure nach dem Schlösing-Tiemann'schen Verfahren bestimmt. Der ausgewaschene Rückstand, hauptsächlich aus Boden bestehend, wurde mit Natronkalk verbrannt.

In den angewandten Substanzen fand sich vor der Fäulniss und Nitrification:

| | |
|---|---|
| in 20 cbcm. Harn . . . . . | 0,2764 gr. N |
| in 10 gr. Boden . . . . . . | 0,0602 » » |
| | 0,3366 gr. N. |

I. Nach 6 monatlicher Versuchsdauer wurde wiedergefunden:

| | | |
|---|---|---|
| Im Filtrat | in Form von $NH_3$ u. organ. Verbindungen | 0,1204 gr. N |
| | » » » $N_2O_3$ u. $N_2O_5$ . . . . . | 0,1158 » » |
| Im ausgewaschenen Boden . . . . . . . . . . | | 0,0691 » » |
| | | 0,3053 gr. N |
| | Verlust durch die Nitrification. . . | 0,0323 » » |

II. Nach 8 Monaten wurde in dem nitrificirten Harn wiedergefunden:

| | | |
|---|---|---|
| Im Filtrat | in Form von $NH_3$ u. organ. Verbindungen | 0,1231 gr. N |
| | « » » $N_2O_3$ u. $N_2O_5$ . . . . . | 0,1119 » » |
| Im ausgewaschenen Boden . . . . . . . . . . | | 0,0677 » » |
| | | 0,3027 gr. N |
| | Verlust bei der Nitrification . . . | 0,0339 » » |

Da in die Vorlagen nur unbestimmbare Spuren von Ammoniak übergegangen waren, so ergiebt sich aus vorstehenden Bestimmungen, dass unter den von uns eingehaltenen Bedingungen der Nitrificationsprocess von einem erheblichen Stickstoffverlust begleitet war. Letzterer betrug nach 6monatlicher Versuchsdauer **9,6 %**, nach 8 Monaten **10,1 %**.

Wir müssen uns damit begnügen, obiges Factum festgestellt zu haben, und können über den chemischen Vorgang, durch welchen bei der Nitrification Stickstoff in gasförmiger Gestalt entweicht — ob durch directe oder indirecte Oxydation des Ammoniaks, Wechselwirkung zwischen Nitriten und organischen Stickstoffverbindungen oder Reduction — zur Zeit nur Vermuthungen anstellen. — Das Ammoniumnitrat scheint sich nicht spontan zu zersetzen, sondern ist in verdünnten sterilisirten Lösungen sehr constant. Wir haben einprocentige Lösungen des reinen Salzes längere Zeit hindurch aufbewahrt und den Ammoniakgehalt wiederholt bestimmt, ohne eine Verminderung desselben zu beobachten. Eine Wechselwirkung zwischen den Nitriten und anderen Stickstoffverbindungen dürfte ebenfalls in unseren Versuchen ausgeschlossen gewesen sein, da vor dem Eintritt der Nitrification die saure Reaction des verdünnten Harns in eine alkalische übergegangen war, später neutral wurde und sich im weiteren Verlauf des Versuchs nicht mehr änderte. Es scheint indessen sehr wohl möglich zu sein, dass in den tieferen Flüssigkeitsschichten oder in dem sehr humusreichen Ackerboden, dessen wir uns bedient hatten, ein Theil der Nitrite oder Nitrate wieder reducirt worden ist und hierin vielleicht — in Uebereinstimmung mit den Ergebnissen Schlösing's, Dehérain's und Maquenne's, sowie Tacke's[1]) — die Erklärung für den Stickstoffverlust liegt. Unter natürlichen Verhältnissen dürfte überhaupt, wie bereits hervorgehoben, der Nitrification häufig eine Reduction in den tieferen Lagen der dem Zerfall unterliegenden organischen Stoffe folgen und diese Ansicht in Anbetracht der grossen Löslichkeit und der leichten Beweglichkeit der Nitrate und Nitrite in erdigen Gemischen auf keine Schwierigkeiten stossen. Wir hoffen, über die Ergebnisse hierauf gerichteter Arbeiten später berichten zu können.

---

[1]) S. w. o. Seite 106, No. 4.

# Ueber die Vertretungswerthe von Fett und Kohlehydraten in der Nahrung.

Von

**Dr. O. Kellner.**

(Der Redaction zugegangen am 16. August 1887.)

Eine kürzlich erschienene Arbeit von Th. Pfeiffer und F. Lehmann[1]) über die «Vertretungswerthe von Fett und Kohlehydraten bei Mastfutter» veranlasst mich, darauf aufmerksam zu machen, dass ähnliche Versuche über die isodynamen Werthe derselben Nährstoffe hinsichtlich der Kraftproduction von mir bereits in den Jahren 1879/80 — eine geraume Zeit vor den Rubner'schen Arbeiten[2]) auf demselben Gebiet — ausgeführt worden sind[3]). Der Charakter jener Versuche gestattete es zwar nicht, die von mir gewonnenen Resultate mit solcher Schärfe zu präcisiren, als dies Rubner später im Stande war; indessen dürfte die Genauigkeit derselben kaum hinter denen der Mastungsversuche Pfeiffer's und Lehmann's zurückstehen und das von mir erlangte Ergebniss als der erste directe experimentelle Beweis für eine Vertretung der Nährstoffe nach ihrem Energie-Inhalt einige Berücksichtigung verdienen.

Das von mir damals benützte Versuchsthier, ein über 400 kgr. schweres Pferd, war durch eine Zufuhr von 613,78 gr. wasserfreier verdaulicher Stärke befähigt worden, in einem

---

1) Journal f. Landwirthschaft, 1886, S. 379.

2) Zeitschr. f. Biologie, 21. Bd. (1885), S. 250 u. 337.

3) O. Kellner, Muskelthätigkeit und Stoffzerfall. Berlin (P. Parey) 1880, S. 34—50.

Dynamometer täglich 538712 Meterkilogramm mehr zu leisten, als bei einer schwachen Tagesration ohne Stärkezusatz. Bei einer zweiten Versuchsreihe mit Leinöl, das in der Form von Leinsamen verabreicht worden war, hatten 203 gr. des Oeles eine Mehrleistung von 464000 Meterkilogramm ermöglicht. Hieraus ergiebt sich, dass

mit 1 gr. Stärke . . . 878 Meterkilogramm
» 1 » Fett. . . . 2286 »

nutzbarer Arbeit producirt wurden. Es war demnach die Wirkung von 1 Theil Fett äquivalent der von 2,60 Theilen Stärke.

Unter Zugrundelegung der von F. Stohmann neuerdings genauer ermittelten Werthe für die Verbrennungswärme der Stärke und des Leinöls lässt sich berechnen[1]), dass bei dem Zerfall

der Stärke. . . . 50 %
und des Leinöls . . . 58 %

der in diesen Nährstoffen vorhandenen Energie für nutzbare Kraftleistungen verwendbar wurde.

Das Princip, welches diesen Untersuchungen zu Grunde lag, hatte ich durch mehrjährige vorangegangene Arbeiten[2]) an demselben Thier sicher gestellt; es ist fast identisch mit dem später von Rubner befolgten Wege zur Ermittlung der isodynamen Werthe des Fettes und der Kohlehydrate beim Eiweissumsatz partiell hungernder Thiere. Auch in meinen Versuchen wurde das Pferd in den Zustand partiellen Hungers gebracht und zwar durch starke Arbeit bei schwacher oder mittlerer Ration. Sobald der Eiweissumsatz die Eiweisszufuhr überstieg, wurde die täglich zu leistende Arbeit periodenweise vermindert, bis Stickstoffgleichgewicht eintrat. Auf diese Weise liess sich das Maximum der Arbeissleistung ermitteln, das eine gegebene Ration bei völligem Gleichgewicht der Einnahmen und Ausgaben des Thieres ermöglicht. Vermehrte

---

1) Vergl. E. Wolff, Grundlagen f. d. rat. Fütterung d. Pferdes. Berlin (P. Parey) 1885, S. 88 u. 93.

2) A. a. O., S. 5—34.

man sodann diese Ration um eine gewisse Menge Stärke oder Fett und steigerte gleichzeitig die Arbeit beträchtlich, so liess sich durch periodenweise Herabsetzung der Anforderungen an die Leistung des Thieres wiederum das Maximum der Arbeit bei Gleichgewicht der Einnahmen und Ausgaben feststellen. Die Differenz zwischen den beiden Maxima lieferte dann das Maass für diejenige nutzbare Kraft, welche der Menge der zugesetzten Stärke, bezw. Fettes entsprach.

Gegen die auf diesem Wege von mir gezogenen Schlüsse hatte früher F. Hoppe-Seyler[1]) Bedenken erhoben, indem er sagte: «Es wirken hier offenbar zwei Momente einander entgegen, die Zuthat von Amylum oder Fett würde unter sonst gleichen Verhältnissen die Stickstoffausscheidung erniedrigen, die stärkere Arbeit sie erhöhen; beide müssen sich mehr oder weniger in ihrer Wirkung aufheben.» In diesen Worten, mit welchen der genannte Forscher nachzuweisen sucht, dass meine Versuchsresultate kaum ausreichend wären, um meine Schlüsse zu rechtfertigen, kann ich jedoch Nichts finden, was gegen meine Methoden oder Folgerungen spräche. Die angeführten Sätze charakterisiren im Gegentheil das Princip, welches meinen Versuchen zu Grunde liegt: Die Energie, welche beim Zerfall der Stärke oder des Fettes — sowie anderer organischer Stoffe — im Thierkörper frei wird, kann zwar für verschiedene Functionen verbraucht werden; hat ein gewisses Quantum dieser Energie aber einem Zweck, z. B. der Kraftproduction, gedient, dann kann dasselbe nach dem Princip der Erhaltung der Kraft nicht auch gleichzeitig eine andere Function, z. B. den Eiweissansatz, befördern. Bei meiner oben beschriebenen Versuchsanordnung wurde aller Energie-Ueberschuss über die zur Erhaltung des Lebens nöthige Menge zur Arbeitsleistung verbraucht und die Muskelthätigkeit auf einer solchen Höhe gehalten, dass weder Eiweiss noch Fett angesetzt werden konnte.

Tokio, den 5. Juli 1887.

---

[1]) F. Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, IV. Theil, 1881, S. 949.

# Ueber das Vorkommen von Fermenten in den Fäces der Kinder, nebst Bemerkungen über das Vorkommen von saccharificirenden Fermenten im Cysteninhalt.

Von

**Professor R. von Jaksch,**

Vorstand der pädiatrischen Klinik zu Graz.

(Der Redaction zugegangen am 29. August 1887.)

Eine Punctionsflüssigkeit, welche aus einer Pankreascyste stammte, die mir mein Freund Professor Wölfler, Vorstand der chirurgischen Klinik, übersandte, gab die Veranlassung, dass ich mich mit dem Nachweise diastatischen Fermentes im menschlichen Organismus mit dem auf meiner Klinik mir zur Verfügung stehenden Material zu beschäftigen begann.

In allen Mittheilungen über Pankreascysten wird als wichtiges diagnostisches Merkmal für die Abstammung der Flüssigkeit das Vorkommen von diastatischem Ferment angegeben; auch in der von meinem Collegen Wölfler mir übersandten Flüssigkeit konnte ich ein solches mit Sicherheit nachweisen.

Aus früheren in der Literatur niedergelegten Beobachtungen geht hervor, dass diastatische Fermente im thierischen Organismus weit verbreitet sind. So wiesen Paschutin[1]) und Eichhorst[2]) ein solches im Darm des Kaninchen nach. Plosz und Tiegel[3]) beobachteten, dass im Blute saccharificirendes Ferment sich vorfindet.

---

1) Paschutin, Archiv von Reichert und Du Bois-Reymond, 1871, citirt nach Maly's Jahresbericht, Bd. 1, S. 304, 1873.

2) Eichhorst, Pflüger's Archiv, Bd. 4, S. 575, 1871.

3) Plosz und Tiegel, Pflüger's Archiv, Bd. 7, S. 391, 1873.

v. Wittich[1]) zeigte, dass auch die menschliche Galle ein derartiges Ferment enthält. Seegen und Kratschmer[2]) fanden, wie schon vor ihnen Cl. Bernard, dass in der Thierleber ein solches Ferment vorkommt.

J. Wortmann[3]) constatirte, dass auch die Bacterien ein diastatisches Ferment ausscheiden, jedoch nur dann, wenn ihnen als Kohlenstoffquelle bloss Stärke zur Ernährung zu Gebote steht.

Ellenberger und Hofmeister[4]) wiesen nach, dass saccharificirende Fermente im Thierkörper weit verbreitet sind.

A. Bechamp[5]) beobachtete das Auftreten eines intensiv saccharificirenden Fermentes in der Frauenmilch, Holovitschiner[6]) fand ein solches Ferment im Harn des Menschen.

Aus diesen allerdings durchaus noch nicht vollständigen Literatur-Angaben ersieht man, das saccharificirende Fermente im thierischen Organismus — wie bereits früher erwähnt — in der That weit verbreitet sind.

Es war desshalb schon von vornherein unwahrscheinlich, dass von pathologischen Flüssigkeiten bloss der Inhalt der Pankreascyste diastatische Wirkungen entfalten sollte, und in der That habe ich in Ascitesflüssigkeiten und in dem Inhalte von Abdominalcysten anderer Herkunft wiederholt, allerdings geringe Mengen eines saccharificirenden, bisweilen aber auch nur Stärke umwandelnden Fermentes nachweisen können. Die Flüssigkeiten der letzten Kategorie verhielten sich dann genau so, wie Breusing[7]) angegeben hat.

---

1) v. Wittich, Pflüger's Archiv, Bd. 6, S. 181, 1872.

2) Seegen und Kratschmer, Pflüger's Archiv, Bd. 14, S. 593, 1877.

3) J. Wortmann, Zeitschr. für physiologische Chemie, Bd. 6, S. 287, 1882.

4) Ellenberger und Hofmeister, Archiv für wissenschaftliche und practische Thierheilkunde, Bd. 8, S. 91, citirt nach Maly's Jahresbericht, Bd. 12, S. 501, 1883.

5) A. Bechamp, Compt. rend., Bd. 96, S. 1608, 1883.

6) Holovitschiner, Virchow's Archiv, Bd. 104, S. 42, 1886.

7) Breusing, Virchow's Archiv, Bd. 107, S. 186, 1887.

Mir schien es nicht unwichtig, hier diese Bemerkungen anzufügen, weil sie zeigen, dass der Nachweis von diastatischem Ferment in einer Punctionsflüssigkeit einen nur beschränkten diagnostischen Werth hat, und ich an diesem Orte davor warnen möchte, auf dieses Symptom für die Diagnose der Pankreascysten ein zu grosses Gewicht zu legen, da sonst Trugschlüsse sicher nicht ausbleiben dürften.

Ich habe mich nun in einer Versuchsreihe mit dem Vorkommen von derartigen diastatischen Fermenten in den Fäces beschäftigt. Bislang war darüber wenig bekannt; ich fand in der Literatur bloss eine Beobachtung u. z. von Eichhorst[1]), die darauf hinweist, dass diesem Forscher der Nachweis eines solchen Fermentes in den Fäces von Thieren gelungen ist; dagegen enthält die Literatur einige Beobachtungen, welche zeigen, dass im Darmtract der Thiere solche saccharificirende Fermente vorkommen (Paschutin[2], Eichhorst[3]). Doch konnte ich in den bisher vorliegenden Angaben keine Beobachtungen über das Vorkommen von saccharificirenden Fermenten im menschlichen Koth finden.

### I. Ueber das Vorkommen von saccharificirenden Fermenten in den Fäces.

Behufs des Nachweises des Fermentes bin ich in der bekannten Weise vorgegangen. Stärkekleisterlösungen von verschiedener Concentration, welche vorher auf einen eventuellen Zuckergehalt geprüft worden waren, wurden mit den Fäces und mit Glycerin-Auszügen derselben vermengt, $^1/_2$—1 Stunde einer Temperatur von 40° C. ausgesetzt und dann auf einen eventuellen Gehalt an Traubenzucker geprüft; stets wurden mehrere Zuckerproben ausgeführt, als die Trommer'sche Probe, Nylander's und Rubner's Reaction. Die Trommer'sche Probe wurde nur dann als beweisend angesehen, wenn die Ausscheidung von Kupferoxydul erfolgte,

---

1) Eichhorst, l. c.
2) Paschutin, l. c.
3) Eichhorst, l. c.

bevor die Probe in das Sieden kam. Dies war im Allgemeinen das Vorgehen; doch habe ich dasselbe, wie sich aus den beigefügten Versuchsprotocollen ergibt, in den einzelnen Versuchen mannigfach verändert.

I. Acuter Darmcatarrh. Die Fäces haben alkalische Reaction.

Die Stärkekleisterlösungen, welche zu diesem Versuche gebraucht wurden, desgleichen die Fäces erweisen sich als zuckerfrei. (Trommer'sche Probe.) Nachdem die Gemenge von Stärkelösung und Fäces eine Stunde einer Temperatur von 40° C. ausgesetzt worden waren, zeigten die Flüssigkeiten die Zuckerproben von Nylander, Rubner und Trommer in exquisitester Weise. Eine Wiederholung des Versuches, nachdem die Proben 30 Minuten einer Temperatur von 40° C. ausgesetzt waren, ergab dasselbe Resultat.

II. Nephritis. Die Fäces werden genau in derselben Weise behandelt, wie im Versuche I. Sämmtliche oben genannten Zuckerproben fielen positiv aus; nach Versetzen einer der Proben mit etwas Hefe tritt typische alkoholische Gährung des Zuckers ein; im Destillate dieser Flüssigkeit lässt sich mittelst Schwefelsäure und essigsaurem Natron Aethylalkohol (Essigäthergeruch) nachweisen.

III. Darmcatarrh. Die Untersuchung der Fäces ergibt dasselbe Resultat, wie im Versuche I und II; auch die Ausführung desselben ist die gleiche; nur wurde in diesem Falle die Gährungsprobe nicht versucht.

IV. Lobuläre Pneumonie; hohes Fieber. Die Fäces, vorher untersucht, erwiesen sich als zuckerfrei.

a) Fäces und Stärkelösung gibt nach mehrstündigem Stehen bei 40° C. eine schwache Trommer'sche Probe.

b) Die Fäces werden mit Glycerin extrahirt und der Glycerinextract mit der Stärkelösung in der Wärme (40° C.) zusammengebracht; wir erhalten nach kurzer Zeit mit diesen Gemengen intensive Zuckerreactionen.

V. Milchkoth eines Säuglings (Darmcatarrh).

a) Fäces + Stärkelösung gibt nach kurzem Stehen bei 40° C. die Trommer'sche Zuckerprobe und die Probe von Nylander.

b) Fäces + Stärkelösung, gekocht: Das Resultat ist negativ.

VI. Darmcatarrh, Rachitis. Die Fäces enthalten keinen Traubenzucker.

a) Fäces + Stärkelösung geben — einige Stunden bei 40° C. belassen — die Trommer'sche und die Nylander'sche Probe.

b) Fäces + Stärkelösung, beide vorher gekocht; die Gemenge geben auch nach 6stündigem Stehen bei einer Temperatur von 40° C. keine positiven Zuckerproben.

d) Glycerinextract der Fäces + Stärkelösung verhält sich wie a.

e) Glycerinextract der Fäces + Stärkelösung, gekocht, verhält sich wie b.

VII. Rachitis. Die Fäces wurden vor dem Versuche untersucht und erwiesen sich als zuckerfrei.

a) Fäces + Stärkelösung, in gewöhnlicher Weise behandelt, geben die Trommer'sche Probe in ausgeprägtester Weise; ebenso der Glycerinextract der Fäces + Stärkelösung.

VIII. Rechtsseitige Hemiplegie nach Encephalitis.

a) Fäces + Stärkelösung geben, nachdem der Versuch mehrere Stunden bei 40° C. belassen wurde, eine schwache Trommer'sche Reaction.

b) Fäces + Stärkelösung: vorher gekocht, alle Proben negativ.

c) Glycerinextract der Fäces + Stärkelösung gibt, in gewöhnlicher Weise behandelt, die Trommer'sche Probe sehr deutlich.

d) Glycerinextract der Fäces + Stärkelösung, vorher energisch gekocht, gibt keine deutliche Reaction.

IX. Tuberculose der Lunge. Die Fäces sind zuckerfrei; der Versuch wird genau so ausgeführt, wie Versuch VI, und ergibt dasselbe Resultat wie dieser.

X. Rachitis. Die Fäces sind zuckerfrei. Die Ausführung und das Resultat des Versuches ist dasselbe wie bei Versuch VI.

XI. Abgelaufene lobäre Pneumonie. Die Fäces sind zuckerfrei. Das Resultat des Versuches ist dasselbe wie bei Versuch VI.

XII. Intestinalcatarrh. Die Fäces sind zuckerfrei; Reaction schwach sauer. Die Ausführung genau wie bei VI, das gleiche Resultat.

XIII. Rachitis, Anämie. Die Fäces sind zuckerfrei; das Resultat des Versuches das gleiche wie bei VI. Eine Probe des Fäces-Stärkekleistergemenges wird mit 5 cbcm. einer 3procentigen Carbollösung versetzt; auch in dieser Probe ergeben die Traubenzuckerreactionen, nachdem die Probe einige Zeit bei 40° C. belassen wurde, ein positives Resultat.

XIV. Chronischer Intestinalcatarrh. Der Stuhl ist absolut farblos; er gibt keine Gallenfarbstoffreaction, enthält etwas Urobilin, keinen Zucker; er reagirt intensiv alkalisch. Die Fäces im Dampfstrom destillirt, liefern ein alkalisches Destillat; eine Wiederholung des Versuches nach Zusatz von Säure (Phosphorsäure) ergibt ein saures Destillat, in welchem nach dem bekannten Vorgehen Essigsäure nachgewiesen werden kann.

a) Fäces + Stärkekleisterlösung.

b) Fäces + Stärkekleisterlösung, gekocht.

c) Glycerinextract der Fäces + Stärkekleisterlösung.

d) Glycerinextract der Fäces + Stärkekleisterlösung, gekocht.

e) Fäces + Stärkekleisterlösung + 5 cbcm. 3proc. Carbollösung.

Die Versuchsflüssigkeiten wurden von 10,52 a. m. bis 12,7 p. m. einer Temperatur von 40° C. ausgesetzt; in keiner der Proben lässt sich Zucker nachweisen; nach Verlauf von 24 Stunden ergibt nur c und e eine schwache Trommer'sche Probe.

XV. Chronische Pneumonie. Die Fäces vorher untersucht, erweisen sich als zuckerfrei.

a) Fäces + Stärkelösung.
b) Fäces + Stärkelösung, gekocht.
c) Glycerinextract + Stärkelösung.
d) Glycerinextract + Stärkelösung, gekocht.
e) Fäces + Stärkekleisterlösung + 5 cbcm. 3proc. Carbollösung.

Um 11,30 a. m. wurden die Gemenge einer Temperatur von 40° C. ausgesetzt; um 12,10 p. m. ergibt a, c, d, e in typischer Weise die Trommer'sche Probe; dieser Versuch steht mit den früheren Versuchen in Einklang; nur ist es auffällig, dass auch der gekochte Glycerinextract diastatische Wirkungen entfaltete.

XVI. Rachitis, Anämie. Die Fäces reagiren sauer.

a) Fäces + Stärkelösung, Resultat negativ.
b) Glycerinextract + Stärkelösung, Resultat positiv. (Trommer's und Nylander's Probe.)

Zu diesem Versuche ist zu bemerken, dass das Glycerinextract sich wirksam erwies, während die nativen Fäces keine Wirkungen entfalteten.

XVII. Acuter Magendarmcatarrh; Milchkoth. Derselbe reagirt alkalisch.

a) Fäces + Stärkelösung: positiv.
b) Glycerinextract der Fäces + Stärkelösung gleichfalls positiv.

Die Versuchsflüssigkeiten wurden um 11,45 a. m. in den Brutofen gebracht und um 1,15 p. m. untersucht.

XVIII. Rachitis, abgelaufene lobuläre Pneumonie. Die Reaction der Fäces ist alkalisch.

a) Fäces + Stärkelösung.
b) Glycerinextract der Fäces + Stärkelösung.

Die Versuchsflüssigkeiten bleiben von 11,45 a. m. bis 1,15 p. m. bei 40° C.; sie enthalten dann Traubenzucker (Trommer, Nylander's[1]) und Phenylhydrazinprobe) in grosser Menge; vorher waren alle diese Flüssigkeiten zuckerfrei.

XIX. Abgelaufene lobuläre Pneumonie. Der Versuch wird in genau derselben Weise wie Versuch XVIII ausgeführt und das Resultat ist auch das gleiche.

XX. Lungentuberculose. Der Versuch ergibt dasselbe Resultat wie der Versuch XVIII.

XXI. Rechtsseitiges pleuritisches Exsudat. Die Ausführung des Versuches ist ganz identisch mit Versuch XVIII. Nach 2stündigem Verweilen des Flüssigkeitsgemenges im Wärmeschrank treten in demselben alle Zuckerproben positiv auf; auch die Phenylhydrazinprobe gibt ein positives Resultat.

---

[1]) Nylander's Probe gelingt auch bei Anwesenheit von Glycerin, jedoch geht die Ausscheidung von Wismuth dann langsam von statten.

XXII. Chronischer Darmcatarrh; 14 Jahre altes Mädchen. Die Ausführung und das Resultat des Versuches ist dasselbe wie im Versuche XVIII.

XXIII. Intestinalcatarrh. Die Reaction der Fäces ist sauer; sie enthalten keinen Zucker. Dieselbe Ausführung und dasselbe Resultat wie im Versuche XVIII.

XXIV. Hydrocephalus int. chron. Ausführung und Resultat des Versuches wie bei XVIII.

XXV. Nephritis. Ausführung und Resultat des Versuches wie bei XVIII.

XXVI. Acute Nephritis. Fäces + Stärkelösung geben bei gewöhnlicher Behandlung im Wärmeschrank nur eine schwache Trommer'sche Probe, während der ebenso behandelte Glycerinextract sowohl Trommer's als Nylander's Probe in ausgesprochener Weise zeigt.

XXVIII. Lobuläre abgelaufene Pneumonie.

a) Fäces + Stärkelösung.

b) Glycerinextract der Fäces + Stärkelösung.

Die Flüssigkeiten geben — einige Zeit bei 40° C. belassen — Trommer's und Nylander's Probe sehr deutlich; vorher erwiesen sie sich als zuckerfrei.

XXIX. Rachitis, Anämie. Dasselbe Resultat wie im Versuche XVIII; sämmtliche Zuckerproben, als Trommer's, Nylander's, Rubner's Reaction und die Phenylhydrazinprobe ergeben ein positives Resultat.

XXX. Atrophia universalis. Die Reaction der Fäces ist alkalisch; sie enthalten keinen Zucker. In diesem Falle kann kein saccharificirendes Ferment nachgewiesen werden.

Ich möchte noch eine Beobachtung anführen, die — wie ich glaube — wohl hierher gehört.

Mein College Professor Wölfler übersandte mir einige Cubikcentimeter Secretes, das aus einer Darmfistel stammte; die Flüssigkeit war grünlich gefärbt, trüb, die Reaction derselben sauer. Die mikroskopische Untersuchung ergab, dass sie reichlich weisse Blutzellen, Epithelzellen und Amylumkörperchen enthielt. Die Flüssigkeit war frei von Zucker. Ich konnte in derselben diastatisches und, wie ich gleich hier erwähnen will, auch ein invertirendes Ferment nachweisen.

Was zunächst das saccharificirende Ferment betrifft, welches man in den Fäces vorfindet, so ist es — wie aus den Versuchen erhellt — leicht löslich in Glycerin und wird, entsprechend allen anderen Angaben über Diastase, durch höhere Temperaturen zerstört. Carbolsäure vernichtet dasselbe nicht (Versuch XIII, XIV, XV). Auch diese Beobachtung

steht mit den bereits vorhandenen Angaben über das Verhalten der Diastase im Einklang. In einem Falle (XV) ergab aber sowohl die gekochte, mit Fäces versetzte Stärkekleisterlösung, als auch der gekochte Glycerinextract ein positives Resultat; vielleicht wurde die Flüssigkeit in diesem Versuche zu wenig energisch gekocht. Das in den Fäces enthaltene Ferment entfaltete am raschesten und promptesten seine Wirkung bei 40° C., während Temperaturen von 60—70° C., wie sich aus Versuchsprotokollen, die ich nicht einzeln aufführe, ergibt, die Wirkungen abschwächten, ja bei längerer Einwirkung sogar völlig aufhoben.

Hervorzuheben habe ich noch, dass wir bisweilen wirksame Glycerinextracte bekamen in Fällen (IV, XVI, XXVI), in welchen die Fäces-Stärkekleistergemenge keine deutlichen Zuckerreactionen gaben.

Aus den oben niedergelegten Beobachtungen erhellt wohl zur Genüge, dass, wenn auch nicht constant, doch mindestens sehr häufig im Kinderkothe saccharificirendes Ferment sich vorfindet. Da nun nicht bloss der Milchkoth der Säuglinge, sondern auch die Fäces älterer (Versuch XVIII) an verschiedenen Affectionen leidender Kinder zur Untersuchung herangezogen wurden, so ist der Schluss wohl nicht zu gewagt, dass im menschlichen Kothe überhaupt saccharificirende Fermente sich häufig vorfinden. Ich habe bloss einmal Gelegenheit gehabt, die Fäces von Erwachsenen zu untersuchen, und zwar stammten dieselben von dem bereits erwähnten Falle von Pankreascyste, als er schon geheilt war; das Material zu diesem Versuche verdanke ich meinem Collegen Wölfler, dem ich hiefür meinen besten Dank ausspreche. Die Versuche wurden in gleicher Weise ausgeführt, wie oben in den Versuchsprotocollen bereits ausführlich berichtet wurde. Die Fäces, desgleichen auch alle Glycerinextracte dieser Fäces erhielten nach dem Resultate der oben genannten Zuckerproben als Trommer's, Rubner's, Nylander's Probe und der Phenylhydrazin-Reaction saccharificirendes Ferment in sehr grosser Menge.

Es wäre aber auch durchaus unrichtig, wollte man das Vorkommen von Ferment als ein pathologisches, oder gar als charakteristisches Symptom für gewisse Krankheiten oder gar für gewisse Darmaffectionen ansehen; haben wir doch unter den von uns untersuchten Fällen eine ganze Reihe verzeichnet, bei welchen Darmerkrankungen fehlten und dennoch saccharificirendes Ferment vorhanden war; und in den Fällen, in denen saccharificirendes Ferment nicht gefunden oder nicht mit Sicherheit nachgewiesen wurde (XIV und XXX), handelte es sich durchaus nicht um dasselbe Krankheitsbild. Sehr wohl möglich ist es, dass vielleicht weitere Untersuchungen in dieser Richtung hin uns lehren werden, dass bestimmte Störungen des Darmtractes, vielleicht gewisse Erkrankungen überhaupt existiren, bei welchen dieses physiologische Vorkommen von Ferment in den Fäces fehlt; Fall XIV und XXX meiner Beobachtung kann wohl in diesem Sinne gedeutet werden. Eine weitere Frage, welche auf Grund dieser Untersuchung beantwortet oder wenigstens erwogen werden muss, ist die, woher das in den Fäces gefundene saccharificirende Ferment stammt?

Zunächst ist daran zu erinnern, dass wir durch die Untersuchungen von Cl. Bernard[1]) schon seit längerer Zeit wissen, dass das Pankreassecret ein saccharificirendes Ferment enthält; auch machen die früher bereits erwähnten Untersuchungen von Paschutin[2]) und Eichhorst[3]) es sehr wahrscheinlich, dass in der Darmschleimhaut der Thiere und im Dünndarmsecrete solche Fermente sich vorfinden; man könnte aus diesen Angaben für unsere Beobachtungen den Schluss ziehen, dass die menschlichen Fäces von diesen Theilen des Darmtractes ihr Ferment beziehen; andererseits aber erhellt aus den Studien von Seegen und Kratschmer[4]), dass eiweisshaltige Gewebe und die Eiweisskörper (Serumalbumin, Eieralbumin, Casein) saccharificirende Wirkungen

1) Cl. Bernard, Leçons, p. 253, 1856. Paris.
2) Paschutin, l. c.
3) Eichhorst, l. c.
4) Seegen und Kratschmer, l. c.

entfalten können; da im Darmtract ja stets Eiweisskörper sich vorfinden, so könnten auch diese die Quelle des in dem Kothe gefundenen saccharificirenden Fermentes sein. Schliesslich ist noch daran zu erinnern, dass Wortmann gezeigt hat, dass Mikroorganismen saccharificirende Wirkungen unter gewissen Verhältnissen entwickeln. Der Darmtract wird nun von einer Unzahl von Mikroorganismen bewohnt und lässt sich desshalb die Ansicht, dass die saccharificirenden Fermente des menschlichen Kothes diesen Bildungen entstammen, nicht ganz von der Hand weisen. Gewiss müssen wir also bei der Beantwortung der oben gestellten Frage diese drei hier angeführten Momente in Betracht ziehen. Welche Annahme die richtige ist, kann vorläufig nicht entschieden werden[1]; doch ist es nicht unwahrscheinlich, dass alle drei angeführten Momente das Auftreten der saccharificirenden Fermente bedingen, wobei je nach der Beschaffenheit des Darmes bald die eine, bald die andere Quelle mehr oder minder reichlich saccharificirendes Ferment liefert.

Eine zweite Versuchsreihe wurde behufs des Nachweises von Invertin in den Fäces ausgeführt. Bekanntlich haben Liebig[2]) und Hoppe-Seyler[3]) gefunden, dass die Hefe einen Rohrzucker invertirenden Körper enthält; Donath[4]), Barth[5]), J. Kjeldahl[6]), A. Mayer[7]) haben sich

---

1) Die oben mitgetheilte Beobachtung, dass bei einem Falle von geheilter Pankreascyste saccharificirendes Ferment in den Fäces gefunden wurde, lässt sich durchaus nicht in dem Sinne verwerthen, dass die saccharificirenden Fermente nicht dem Pankreassecrete entstammen, da anzunehmen ist, dass bei dieser Affection nicht die ganze Drüse, sondern nur einzelne Lappen ausser Function treten.

2) Liebig, Annalen der Chemie u. Pharmacie, Bd. 153, S. 1, 1870.

3) Hoppe-Seyler, Berichte der deutschen chem. Gesellschaft, Bd 4, S. 810. 1870.

4) Donath, Berichte der deutschen chem. Gesellschaft, Bd. 8, S. 795, 1875.

5) Barth, Berichte der deutschen chem. Gesellschaft, Bd. 11, S. 474, 1878.

6) Kjeldahl, Maly's Jahresbericht, Bd. 11, S. 448, 1882.

7) A. Mayer, Maly's Jahresbericht, Bd. 11, S. 449, 1882.

mit diesem Fermente weiter beschäftigt, und O. Löw[1]), dann F. W. Pavy[2]) haben weitere Angaben über dieses Ferment gemacht. Für unseren Zweck sind vor Allem die Angaben von Cl. Bernard, Eichhorst und Pavy von Interesse, weil diese Autoren im Darm der Thiere Rohrzucker invertirende Fermente vorfanden. Ueber das Vorkommen von Invertin jedoch in den Fäces des Menschen war bisher nichts bekannt.

## II. Ueber das Vorkommen eines invertirenden Fermentes in den Fäces.

Bei diesen Untersuchungen bin ich so vorgegangen, dass Rohrzuckerlösungen, welche auf ihren eventuellen Traubenzuckergehalt vorher geprüft worden waren, mit den Fäces und dem Glycerinextract derselben versetzt und dann in dem Wärmeschrank einer Temperatur von 40—50° C. ausgesetzt wurden.

Das Material, welches ich zu diesen Versuchen benützte, war das gleiche, wie zu dem Nachweise von saccharificirendem Ferment, und ich will desshalb die einzelnen Versuche bloss mit derselben Nummer aufführen, ohne Angabe des Krankheitsfalles, von welchem der Koth stammte, da diese Angaben schon früher gemacht wurden. Auch bei diesen Versuchen beschränkte ich mich nicht auf die Ausführung der Trommer'schen Probe allein, sondern auch Nylander's, Rubner's Reaction, und vor Allem die Phenylhydrazinprobe kam zur Verwendung.

XIII. Fäces + Rohrzuckerlösung. Nach mehrstündigem Stehen bei 40—50° C. gaben sämmtliche Traubenzuckerproben mit dieser Flüssigkeit ein positives Resultat.

XIV. a) Fäces + Rohrzuckerlösung.
b) Glycerinextract der Fäces + Rohrzuckerlösung.
Der Versuch wird mehrere Stunden bei 40° C. belassen und dann nach 24 Stunden untersucht; alle Zuckerproben fallen schwach positiv aus.

---

[1]) O. Löw, Pflüger's Archiv f. Physiologie, Bd. 27, S. 203, 1882.
[2]) Pavy. Maly's Jahresbericht, Bd. 14, S. 294, 1884.

XV. a) Fäces + Rohrzuckerlösung.

b) Glycerinextract der Fäces + Rohrzuckerlösung.

Der Versuch wurde begonnen um 11,30 a. m., die Flüssigkeit wird um 12,10 p. m, auf ihren Traubenzuckergehalt untersucht.

a gibt Trommer's und Nylander's Probe sehr intensiv.

b keine Reaction.

XVI. Sowohl das Gemenge von Fäces und Rohrzuckerlösung, als auch das des Glycerinextractes und der Rohrzuckerlösung geben nach wenigen Stunden, bei 40—50° C. belassen, intensiv die Trommer'sche Probe.

XVII ergibt dasselbe Resultat wie Versuch XVI.

XVIII » » » » » »

XIX » » » » » »

XX » » » » » »

XXI » » » » » »

XXII. Die Gemenge von Rohrzuckerlösung und Fäces zeigen, mehrere Stunden in der Wärme bei 40° C. belassen, die Trommer'sche Probe nur schwach, während der mit Rohrzuckerlösung versetzte Glycerinextract die Zuckerreaction exquisit gibt.

XXIII. In diesem Falle konnten wir ein invertirendes Ferment nicht mit Bestimmtheit nachweisen.

XXIV ergibt dasselbe Resultat wie Versuch XVI.

XXV » » » » » »

XXVI » » » » » »

XXVII » » » » » »

XXVIII » » » » » »

XXIX. In dieser Beobachtung wurden alle uns bekannten und für diesen Zweck brauchbaren Zuckerproben, als Trommer's, Nylander's und Rubner's Reaction und die Phenylhydrazinprobe verwendet. Das Resultat dieser Proben war positiv.

XXX. Die Proben von Nylander und Trommer geben mit den in gewöhnlicher Weise hergestellten und behandelten Flüssigkeitsgemengen ein positives Resultat.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, dass ein invertirendes Ferment sehr häufig und, wie es scheint, noch constanter als saccharificirende Fermente in den Fäces sich vorfindet; es ist zu bemerken, dass dasselbe den Fäces sich mittelst Glycerin entziehen lässt. Dasselbe entfaltet intensive Wirkungen bei einer Temperatur von 40—50° C.; auffällig ist es, dass in einem Falle (XV), obwohl der Versuch in genau gleicher Weise ausgeführt wurde, das Ferment nicht vom Glycerin aufgenommen wurde.

Ich möchte noch darauf aufmerksam machen, da, wie bekannt, Rohrzucker auch durch Behandeln mit Säuren (Oxalsäure, Schwefelsäure) invertirt, d. h. in Dextrose und Levulose gespalten wird, dass das Vorhandensein von Säuren in unseren Beobachtungen nicht die Ursache der invertirenden Eigenschaften sein kann, da auch alkalisch reagirender Koth (siehe die oben mitgetheilten Versuchsprotocolle) invertirende Eigenschaften hat.

Bezüglich der Herkunft des Invertins lassen sich bestimmte Angaben nicht machen; vielleicht stammt es auch aus der Nahrung, da wir ja wissen, dass die Pflanzen häufig Invertin enthalten. Dass die in den Fäces sich vorfindenden spärlichen Mengen von Hefezellen die Quelle für dasselbe abgeben, scheint mir bei der relativ geringen Anzahl, in welcher man sie in den Fäces findet, nicht wahrscheinlich.

Zum Schlusse möchte ich noch einen Gesichtspunkt hier aufführen, der mir für die Lehre von den physiologischen Vorgängen in den tieferen Darmabschnitten nicht unwichtig scheint; es hat in den letzten Jahren die Ansicht, dass in den tieferen Partien des Darms nur unwichtige und nebensächliche Processe vor sich gehen, vor Allem, dass diese Partien wesentlich nur bestimmt seien, Wasser aus den gebildeten Fäcalmassen zu entnehmen, immer mehr und mehr an Verbreitung gewonnen. Ich glaube, dass aber die hier vorgelegten Beobachtungen zeigen, dass, da die Fäces solche für den Aufbau des Organismus nicht unwichtige Fermente enthalten, auch die betreffenden Darmpartien, denen sie entstammen, und zwar in noch höherem Maasse wichtigere physiologische Wirkungen als die einfache Wasserentziehung aus dem im Darme befindlichen Inhalte entfalten können.

Ferner hebe ich noch hervor, dass diese hier mitgetheilten Beobachtungen, wenn sie durch ausgedehntere Nachuntersuchungen bestätigt werden, auch für die praktisch so wichtige Ernährung per Rectum sich wohl verwerthen lassen; ich behalte mir übrigens Untersuchungen in dieser Richtung noch vor. In Bezug auf die angewandten Methoden zum

Auffinden solcher Fermente habe ich noch zu erwähnen, dass in Stärkekleisterlösungen von verschiedener Concentration erst bei sehr langem Stehen (Tage lang) und nachdem das Amylum durch Einfluss von Mikroorganismen zerstört wurde, bisweilen Spuren von Traubenzucker sich nachweisen lassen; auch Rohrzuckerlösungen ergeben mit der Trommer'schen Probe erst nach langem Stehen, nie aber in wenigen Stunden, ein sehr schwaches positives Resultat und es ist desshalb vollständig ausgeschlossen, dass die positiven Resultate meiner Untersuchungen auf solchen spontanen Zersetzungen beruhen.

Aus diesen hier niedergelegten Thatsachen erhellt wohl, dass der menschliche Darmkoth häufig Fermente enthält, u. z.:

1. ein saccharificirendes Ferment,
2. ein Rohrzucker invertirendes Ferment.

Weitere Untersuchungen aber müssen uns erst lehren, welche physiologische, welche pathologische Bedeutung das Vorkommen oder das Fehlen derartiger Fermente im menschlichen Koth besitzt.

Graz, Ende Juli 1887.

# Ueber Skatoxylschwefelsäure und Skatolfarbstoff.

Von

**Bruno Mester,**
cand. med. aus Bremen.

(Der Redaction zugegangen am 8. September 1887.)

Die Untersuchungen Brieger's[1]) über Skatol und sein Verhalten im thierischen Organismus haben gezeigt, dass das Skatol, Thieren verfüttert, von diesen im Harn als gepaarte Schwefelsäure ausgeschieden wird und das Chromogen eines röthlichen Farbstoffs ist, der auch im menschlichen Harn, unter normalen wie pathologischen Verhältnissen, bei der Probe auf Indigo oder auf Eiweiss mit Salpetersäure oft beobachtet wird. — Bei der nahen Beziehung des Skatols zum Indol lag es nahe, diese Aetherschwefelsäure analog der Indoxylschwefelsäure als Skatoxylschwefelsäure aufzufassen; allein der Versuch Brieger's, diese Verbindung nach der von Baumann[2]) und ihm früher zur Gewinnung des indoxylschwefelsauren Kalium angewandten Methode darzustellen, ergab nur eine geringe Ausbeute: die erhaltenen Krystalle gaben mit Chlorbarium Bariumsulfat, entwickelten trocken erhitzt rothe Dämpfe, reichten indessen zu einer Analyse nicht aus. — Späterhin gelang es J. Otto[3]), aus dem an

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IV, S. 414; Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. X, S. 1027; ebenda, Bd. XII, S. 1985.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. III, S. 254.

[3]) Pflüger's Archiv, Bd. XXXIII, S. 614.

Skatolfarbstoff sehr reichen Harn eines Diabetikers nach dem gleichen Verfahren wie Brieger eine krystallinische Substanz zu gewinnen und durch Analysen und Reaktionen dieselbe als skatoxylschwefelsaures Kalium nachzuweisen. Die Existenz der Skatoxylschwefelsäure war demnach nicht mehr fraglich, immerhin blieben auch jetzt noch hinsichtlich der näheren Eigenschaften dieser Verbindung, der Ausscheidung des Skatolchromogens und der Natur des Skatolfarbstoffs eine Reihe von Fragen zur Beantwortung offen, welche es angezeigt sein liessen, die Versuche Brieger's mit der Fütterung von Skatol wieder aufzunehmen, um so mehr, als in jüngster Zeit E. Fischer[1]) ein Verfahren entdeckt hat, das es ermöglicht, Skatol in jeder Menge synthetisch darzustellen.

Im Folgenden theile ich daher die Resultate einer Arbeit mit, die, im Januar 1887 auf Vorschlag von Herrn Professor Baumann begonnen, in erster Linie das Ziel verfolgte, durch Fütterung von Skatol aus dem Hundeharn eine grössere Quantität skatoxylschwefelsaures Kalium zu gewinnen. — Zu dem Zwecke wurde damit angefangen, ein bedeutenderes Quantum Skatol nach der Methode Fischer's herzustellen. Phenylhydrazin und Propylaldehyd werden unter gleichzeitiger Abkühlung im Verhältniss von 10 : 6 gemischt, dabei bildet sich Propylidenphenylhydrazin und Wasser, das durch Kaliumcarbonat entfernt wird. Bei der Einwirkung von trockenem gepulverten Chlorzink auf das Condensationsprodukt entsteht neben Ammoniak unter lebhafter Reaktion Skatol, das, mit Wasserdampf überdestillirt, in blättrig-krystallinischer Form gewonnen wird. — Das so erhaltene Skatol wurde einem grossen, kräftigen, ca. 55 kgr. schweren Hunde längere Zeit hindurch verfüttert und von diesem im Grossen und Ganzen gut vertragen, wenngleich das Befinden des Thieres es mehrmals nothwendig machte, mit der Skatolfütterung auszusetzen und die zuerst eingehaltene Tagesdosis von 6 gr. oft auf die Hälfte zu reduciren. Erbrechen trat hin und wieder auf, Diarrhöe war niemals vorhanden.

---

1) Synthese von Indolderivaten. Liebig's Annalen, Bd. 236.

Der Harn hatte im Allgemeinen folgende Eigenschaften. Frisch gelassen sah er rothgelb aus, bei längerem Stehen an der Luft nahm er, besonders in den obersten Schichten, eine röthliche Färbung an. Bei der Jaffé'schen Indigoprobe und schon auf Zusatz von concentrirter Salzsäure färbte er sich dunkelroth; beim Erwärmen wurde diese Färbung noch intensiver, ging jedoch bei längerem Erhitzen leicht in Violett über. Alkalische Kupferlösung wurde reducirt, eine Polarisationsbestimmung in einem Harn, der nach Eingabe von 9 gr. Skatol gelassen war, ergab Linksdrehung um 1,5° in 20 cm. Röhre. Eine Schwefelsäurebestimmung, gleichfalls im Harn nach 9 gr. Skatol: 0,240 $BaSO_4$ aus den schwefelsauren Salzen (A), 0,191 $BaSO_4$ aus den ätherschwefelsauren Salzen (B) in 50 cbcm.; das Verhältniss $\frac{A}{B}$ also = 1,26. Eine gleiche Bestimmung am folgenden Tage, nachdem weitere 4 gr. Skatol gegeben waren: 0,158 $BaSO_4$ A, und 0,103 $BaSO_4$ B; demnach $\frac{A}{B} = 1,53$. Die Ausscheidung der Aetherschwefelsäure war also gegenüber dem normalen Verhalten nicht unerheblich gesteigert.

Als so im Verlauf von 3 Wochen dem Hunde ca. 30 gr. Skatol einverleibt waren, wurde der gesammelte Harn behufs Gewinnung des skatoxylschwefelsauren Kalium verarbeitet nach dem von G. Hoppe-Seyler[1]) modificirten Baumann-Brieger'schen Verfahren zur Darstellung des indoxylschwefelsauren Salzes. Es wurde der zur Syrupconsistenz eingedampfte Harn, so lange sich noch ein Niederschlag bildete, mit 96 % Alkohol versetzt, filtrirt und das Filtrat mit dem gleichen Volumen Aether gemischt. Nach 24 Stunden die klare ätherisch-alkoholische Lösung abgegossen, mit einer concentrirten alkoholischen Oxalsäurelösung in der Kälte behandelt, bis kein Niederschlag mehr entstand, schnell filtrirt, bis zur deutlich alkalischen Reaktion mit Kaliumcarbonatlösung ver-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VII, S. 423.

setzt und abfiltrirt. Dann wurde der Aether abdestillirt, die nunmehr alkoholische Lösung auf dem Wasserbad unter sorgfältiger Erhaltung der alkalischen Reaktion eingedampft bis zur Syrupdicke, mit absolutem Alkohol versetzt und von den ausgeschiedenen Salzen abfiltrirt. Dieses Filtrat wurde wieder eingeengt, mit Alkohol absol. im Ueberschuss behandelt, von den ausfallenden Schmieren befreit, in zwei Portionen getheilt, deren eine mit dem gleichen Volumen wasserfreien Aether versetzt und die Krystallisation des skatoxylschwefelsauren Kalium abgewartet. Diese Krystallisation trat aber weder nach Tagen, noch nach Wochen ein. Und auch nach Ablauf von zwei Monaten ergab die Prüfung der in der Zeit an den Wänden der Gefässe ausgeschiedenen Krystalle auf Schwefelsäure nur wenige Milligramm Bariumsulfat.

Dieses unerwartete Ergebniss musste zu der Vermuthung führen, dass, wenn überhaupt im vorliegenden Fall Skatoxylschwefelsäure gebildet worden war, dies nur in einer sehr geringen Menge geschehen sein konnte, die ganz ausser Verhältniss zu der Quantität des verfütterten Skatols stand. Dafür sprach auch die schon während der Skatolfütterung gemachte Wahrnehmung, dass, mochte immerhin die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren gegenüber der Norm vermehrt sein, dennoch keine weitere Zunahme auf Kosten der präformirten Schwefelsäure, wie z. B. nach der Indolfütterung, zu beobachten, die präformirte Schwefelsäure vielmehr ungefähr in der normalen Menge vorhanden war.

Ein zweiter Versuch führte zu dem gleichen Resultat wie der erste. Dem Versuchshund wurden fernerhin, ohne dass Erbrechen eintrat, im Verlauf von 2 Tagen 14 gr. Skatol eingegeben und in dem gesammelten Harn die Schwefelsäure bestimmt. Es wurde gefunden: 0,315 gr. $BaSO_4$ A, und nur 0,002 gr. $BaSO_4$ B in 50 cbcm; also $\frac{A}{B} = 157$. Dieses Resultat war sehr auffällig, da es in Widerspruch zu stehen schien mit der Anwesenheit des Skatolfarbstoffs, der sich aus den alkoholischen, ätherischen und wässerigen Lösungen des zur Gewinnung des skatoxylschwefelsauren Salzes ver-

arbeiteten Harns durch Salzsäure reichlich abscheiden liess, während man von vornherein bei der so geringen Menge Skatoxylschwefelsäure auch nur wenig Farbstoff hätte erwarten sollen. Dieser Farbstoff konnte demnach nicht aus dem Schwefelsäurepaarling des Skatols, wie der Indigo aus dem indoxylschwefelsauren Kalium, entstanden sein, sondern musste von einem Chromogen noch unbekannter Natur abstammen, das nicht in Form von Aetherschwefelsäure im Harn auftrat.

Um daher über die Existenz der Skatoxylschwefelsäure und ihre Beziehungen zu diesem Chromogen weiteren Aufschluss zu gewinnen, wurden in der Lösung der gereinigten Substanz, welche aus dem gesammelten Skatol-Harn gewonnen war, Bestimmungen vorgenommen, einerseits des durch Salzsäure abspaltbaren Farbstoffes, andererseits der gleichzeitig dabei gebildeten Schwefelsäure. Es ergab sich: aus 100 gr. der wässerigen Lösung, die frei von Sulfaten war, 0,326 gr. Farbstoff und 0,055 gr. Bariumsulfat.

Da es nun auch von Interesse zu sein schien, die Frage nach der Resorption des Skatols und seiner Ausscheidung als gepaarte Schwefelsäure einerseits und als Chromogen andererseits an einer einmaligen Probe Skatol genauer zu verfolgen, so wurde dem Versuchshund nach einer längeren Pause, während der er kräftige Nahrung erhalten hatte, eine grössere Dosis Skatol einverleibt und eine Reihe von Schwefelsäurebestimmungen im Harn vorgenommen. Diese im Folgenden mitgetheilten Bestimmungen sind nach der von Baumann[1]) angegebenen Methode ausgeführt in jeweils 25 cbcm. Harn, ohne mit Essigsäure vor dem Zusatz von Chlorbarium anzusäuern. Die Asche der gewogenen Filter betrug nach Fresenius und Caspary 0,00017 gr. und wurde nicht in Rechnung gebracht. Mit A ist die den schwefelsauren Salzen, mit B die den ätherschwefelsauren Salzen des Harns entsprechende Menge Bariumsulfat bezeichnet.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. I, S. 70.

I.

| Datum. | Harnmenge. | Spec. Gewicht. | A. | B. | $\frac{A}{B}$ | Skatolfarbstoff. | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2. Juni | 600 cbcm. | 1035 | 0,1773 gr. | 0,0103 gr. | 17,2 | — | Controlversuch. |
| 3. » | 410 » | 1040 | 0,2678 » | 0,0279 » | 9,6 | Wenig. | Harn nach 6 + 3 gr. Skatol, die jedoch sehr bald wieder erbrochen wurden. |
| 4./6. » | 380 » | 1057 | 0,0991 » | 0,0045 » | 22,0 | Viel. | Harn nach 3 gr. Skatol am 4. Juni. Farbe röthlich. In den Fäces 0,7 gr. Skatol. |
| 7. » | 370 » | 1054 | 0,2738 » | 0,0236 » | 11,6 | Wenig. | |
| 8./9. » | 540 » | 1050 | 0,2356 » | 0,0132 » | 17,9 | — | |
| 10. » | 400 » | 1044 | 0,1704 » | 0,0081 » | 21,0 | — | |
| **II.** | | | | | | | |
| 15. Juni | 520 cbcm. | 1045 | 0,1298 gr. | 0,0632 gr. | 2,0 | Nicht viel. | Harn nach 3 gr. Skatol am 14. Juni. |
| 16. » | 555 » | 1066 | 0,3124 » | 0,0176 » | 17,7 | — | |
| 17. » | 685 » | 1054 | 0,2478 » | 0,0105 » | 23,6 | — | |

Dieser Versuch wurde noch zum dritten und nach Ablauf einiger Tage zum vierten Male mit je 3 gr. Skatol angestellt. Das Verhältniss zwischen der präformirten und der gepaarten Schwefelsäure schwankte innerhalb der normalen Grenzen, Farbstoff jedoch war im Harn nur in auffallend geringer Menge vorhanden, trotzdem dass das Befinden des Hundes weder durch Erbrechen, noch durch Diarrhoe gestört und in den Fäces nur wenig Skatol zu finden war.

Eine Bestimmung des Gesammtschwefels wurde zweimal vorgenommen. Dieselbe ergab: das erste Mal (bei 0,0991 gr. $BaSO_4$ A und 0,0045 gr. $BaSO_4$ B, $\frac{A}{B} = 22$, $A + B = 0,1036$ und viel Farbstoff) = 0,342 gr. $BaSO_4$ in 25 cbcm.; das zweite Mal (bei 0,1704 gr. $BaSO_4$ A und 0,0081 gr. $BaSO_4$ B, $\frac{A}{B} = 21$, $A + B = 0,1785$ und sehr wenig Farbstoff) = 0,318 gr. $BaSO_4$ in 25 cbcm. Es waren also im Harn erhebliche Mengen nicht oxydirten Schwefels enthalten. In welcher Verbindung derselbe hier vorhanden war, lässt sich nicht angeben, doch dürften die Mercaptursäuren in diesem Falle nicht in Frage kommen.

Um festzustellen, ob und inwieweit die an dem ersten Versuchsthier gewonnenen Resultate auf allgemeinere Gültigkeit Anspruch machen könnten, wurden diese Schwefelsäurebestimmungen nach einiger Zeit an einem zweiten Hunde eine Reihe von Tagen hindurch in der gleichen Weise wie früher fortgesetzt. Dieser zweite Hund, ein junges, kräftiges Thier, erhielt täglich in einmaliger Dosis 2,0 gr. Skatol. Der Harn zeigte die oben beschriebenen Eigenschaften. Er reducirte Kupferoxyd in alkalischer Lösung, eine Drehungsbestimmung nach 4 gr. Skatol ergab $-0,7^{\circ}$ in 20 cm. Röhre.

Die Gesammtmenge der innerhalb der angegebenen Tage ausgeschiedenen Aetherschwefelsäure beträgt, entsprechend laut nachstehender Tabelle 2,213 gr. Bariumsulfat, = 0,93 gr. Schwefelsäure. Bezogen auf $C_9H_8NOSO_2OK$, würden diese

| Datum. | Harnmenge. | Spec. Gewicht. | A. | B. | $\frac{A}{B}$ | Absolute Menge des ätherschwef. Baryt. | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 19. Juli | 200 cbcm. | 1053 | 0,2141 gr. | 0,0320 gr. | 6,7 | 0,256 gr. | Nach je 2 gr. Skatol am 17. u. 18. Juli. |
| 20. » | 360 » | 1046 | 0,1514 » | 0,0234 » | 6,4 | 0,336 » | Nach 2 gr. Skatol am 19. Juli. |
| 21. » | 390 » | 1040 | 0,1116 » | 0,0161 » | 6,9 | 0,251 » | Nach 2 gr. Skatol am 20. Juli. |
| 22. » | 130 » | 1036 | 0,1328 » | 0,0115 » | 11,5 | 0,060 » | Der Hund verlor den Appetit. Kein Skatol. |
| 23. » | 200 » | 1055 | 0,3610 » | 0,0243 » | 14,8 | 0,194 » | Kein Skatol. |
| 25. » | 325 » | 1067 | 0,3057 » | 0,0244 » | 12,5 | 0,317 » | Kein Skatol. |
| 26. » | 250 » | 1044 | 0,1269 » | 0,0597 » | 2,1 | 0,597 » | Nach 2 gr. Skatol am 25. Juli. |
| 27. » | 500 » | 1026 | 0,0387 » | 0,0101 » | 3,8 | 0,202 » | Nach 2 gr. Skatol am 26. Juli. |
| | | | | | | 2,213 gr. | Farbstoff war besonders reichlich am letzten Tage vorhanden; auch an den Tagen, wo kein Skatol gegeben wurde, war seine Menge vermehrt. |

0,93 gr. Schwefelsäure in 2,5 gr. skatoxylschwefelsaurem Kalium enthalten gewesen sein. Allein bei dieser Rechnung sind einerseits die Aetherschwefelsäuren der skatolfreien Tage als Skatolderivat angesehen und andererseits die normalen Mengen der gepaarten Schwefelsäuren überhaupt nicht in Anschlag gebracht worden. Trotzdem wäre somit in diesem denkbar günstigsten Fall von 12 gr. verfüttertem Skatol auch nicht mehr wie ein Fünftel als skatoxylschwefelsaures Salz ausgeschieden worden.

Nachdem nun aus den angegebenen Gründen die Gewinnung des skatoxylschwefelsauren Kalium sich als unausführbar erwiesen hatte, wurde im weiteren Verlauf der Arbeit zur Darstellung des Skatolfarbstoffs selbst geschritten. Als Material hierfür dienten die alkohol-ätherischen Lösungen, die nach dem oben beschriebenen Verfahren aus dem Skatolharn hergestellt worden waren und das Chromogen reichlich enthielten. — Aus einer solchen Lösung wurde der Skatolfarbstoff einfach durch Zusatz von concentrirter Salzsäure erhalten. Von der alkoholischen Lösung des Chromogens wurde ein Theil mit Salzsäure versetzt, der in leicht gefärbten Flocken ausfallende Niederschlag in Aether gelöst, der Aether auf dem Wasserbade zum grössten Theil verdampft und der Farbstoff durch Wasser ausgefällt. Wird das Eindampfen der ätherischen Lösung zu weit getrieben, so wandelt sich der Farbstoff in eine braunrothe, später kohlschwarze Masse um, die dann in Aether nicht mehr löslich ist. Ein anderer Theil der alkoholischen Lösung des Chromogens wurde mit neutralem Bleiacetat gemischt, durch Schwefelwasserstoff vom Blei, durch Erhitzen vom Schwefelwasserstoff befreit und dann zur Abscheidung des Farbstoffs mit Salzsäure versetzt. Eine gleichzeitig dabei angestellte Aetherschwefelsäurebestimmung ergab auch diesmal keine nennenswerthe Menge gebundener Schwefelsäure.

Der so gewonnene Farbstoff ist als ein Oxydationsprodukt des Chromogens oder eines aus demselben durch Spaltung entstehenden Körpers aufzufassen, denn seine Bildung kann bei gleichzeitiger Einwirkung von Reduktions-

mitteln, z. B. Wasserstoff in statu nascendi, verhindert werden. Versetzt man nämlich eine Lösung des Chromogens mit Salzsäure und fügt Zinnfolie hinzu, so tritt nur eine schwache Rothfärbung der Flüssigkeit auf, die bei der Weiterentwicklung des Wasserstoffs so weit verschwindet, dass nur die obersten, mit der Luft in Berührung gebliebenen Schichten der Flüssigkeit leicht röthlich gefärbt erscheinen. Zinnchlorür wirkt weniger energisch und vermag nur theilweise der Entstehung des Farbstoffs Einhalt zu thun.

Eine Reihe Analysen des, wie oben angegeben, in verschiedener Weise dargestellten Farbstoffs ergab Folgendes:

| | | | |
|---|---|---|---|
| I. | S = 0,1435 gr. | | |
| | | $CO_2$ = 0,3780 gr. | C = 71,84 %. |
| | | $H_2O$ = 0,0987 gr. | H = 7,64 %. |
| | S = 0,2222 gr. | | |
| | | N = 12,46 cbcm. bei 18° C., 740 mm. | N = 6,3 %. |
| II. | S = 0,1718 gr. | | |
| | | $CO_2$ = 0,4216 gr. | C = 66,92 %. |
| | | $H_2O$ = 0,1012 gr. | H = 6,54 %. |
| | S = 0,2345 gr. | | |
| | | N = 19,2 cbcm. bei 17° C., 736 mm. | N = 9,149 %. |
| III. | S = 0,1790 gr. | | |
| | | $CO_2$ = 0,4658 gr. | C = 70,96 %. |
| | | $H_2O$ = 0,1049 gr. | H = 6,51 %. |

Diese Resultate stimmen unter einander zu wenig überein, als dass sie zur Aufstellung einer Formel hätten führen können; am meisten Werth dürften wohl die sub II mitgetheilten Zahlen besitzen, da die hierzu verwandte, aus der ätherischen Lösung erhaltene Substanz sehr rein zu sein schien. Der Gedanke lag nahe, den Farbstoff für Skatoxyl anzusprechen, aber auch hierzu passen die gefundenen Werthe schlecht, wie nachstehende Zusammenstellung zeigt; zudem mag es wahrscheinlicher sein, den Skatolfarbstoff als ein Oxydationsprodukt des Skatoxyl, etwa mit gleichzeitiger Condensation zweier Moleküle, aufzufassen und ihm, gleich dem Indigo, eine complicirtere Formel zuzuschreiben.

| Berechnet für Skatoxyl: | Gefunden: I. | II. | III. |
|---|---|---|---|
| $C_9$ = 108 = 73,47 % | 71,84 % | 66,92 % | 70,96 %. |
| $H_9$ = 9 = 6,12 % | 7,64 % | 6,54 % | 6,51 %. |
| N = 14 = 9,52 % | 6,3 % | 9,15 % | — |
| O = 16 = 10,89 % | — | — | —. |

Der Farbstoff ist amorph; beim Erwärmen und Trocknen auf dem Wasserbad spaltet der über Schwefelsäure getrocknete Farbstoff Wasser ab und verliert dadurch bis zu 10 % an Gewicht. Nur leicht gefärbt, wenn er frisch aus der Lösung des Chromogens abgeschieden wird, nimmt er bald eine dunkelviolette und später unter der Einwirkung der Luft eine mehr braune Farbe an. Auch dieses Verhalten spricht dafür, dass der Farbstoff als ein Oxydationsprodukt zu betrachten ist. Er besitzt basische und saure Eigenschaften, ist in Salzsäure und Schwefelsäure mit kirschrother, in Alkalien und Ammoniak mit gelber Farbe löslich. Löslich ferner in Alkohol und Amylalkohol mit dunkelvioletter Farbe, in Aether und Chloroform, unlöslich in Wasser. Vornehmlich gilt das für den Farbstoff in frischem Zustande; hatte man ihn dagegen einige Zeit an der Luft aufbewahrt, so löst er sich nur wenig in Aether, besser auf einen geringen Zusatz von Säure hin, während ein Ueberschuss derselben dem Aether den Farbstoff wieder entzieht. Wird eine alkoholische Lösung des Farbstoffs mit Aether geschüttelt, so tritt im Aether eine schöne grüne Fluorescenz auf; unter dem Einfluss der Luft nimmt dieselbe bald eine mehr röthliche Nuance an.

Aus den im Vorstehenden mitgetheilten Beobachtungen wird Folgendes als Ergebniss hinzustellen sein. Eine Analogie in dem Verhalten des thierischen Organismus nach Skatolfütterung mit dem nach der Eingabe von Indol besteht nicht in dem Maasse, wie es die nahe Verwandtschaft beider Körper von vornherein erwarten lässt. Das Indol wird, wenn auch in geringerem Grade als das Phenol, leicht und fast vollständig im Darm resorbirt; die Ausscheidung der Aetherschwefelsäure ist dabei gleich von Anfang an erheblich vermehrt, und diese Vermehrung nimmt nach Ein-

führung grösserer Dosen Indol so schnell zu, dass schon nach wenigen Tagen die präformirte Schwefelsäure vollständig aus dem Harn verschwunden ist. Anders beim Skatol. Hier gelangt nur ein Theil der eingegebenen Quantität zur Resorption, während der andere unverändert in die Fäces übergeht. Im Harn zeigt sich dann, besonders deutlich in der ersten Zeit, eine Zunahme der gebundenen Schwefelsäure, aber doch nicht in solchem Maasse, dass die präformirte Schwefelsäure zu Gunsten jener erheblich vermindert wäre oder etwa gänzlich im Harn fehlte, während späterhin, bei länger fortgesetzter Skatolfütterung, an Stelle der Zunahme sogar eine Verminderung der Aetherschwefelsäureausscheidung eintreten und schliesslich zum fast völligen Schwinden derselben führen kann.

Worin diese Verhältnisse begründet sind, lässt sich mit Sicherheit nicht angeben. Man könnte vermuthen, dass die Skatoxylschwefelsäure-Verbindung überhaupt nur schwer zu Stande kommt und nicht von derselben Beständigkeit wie das analoge Indolderivat ist, weil im Skatol, dem Methylindol, die Anwesenheit der Methylgruppe eine Bindung des Schwefelsäurerestes an der gleichen Stelle unmöglich macht, wo sie im Indol statt hat. — Auf der andern Seite wieder wäre an die antiseptischen Eigenschaften des Skatols zu denken, in Folge deren eine derartige Einschränkung der Darmfäulniss bewirkt würde, dass eine Bildung der Aetherschwefelsäure nur mehr in geringem Grade eintritt. Auch die Giftigkeit des Skatols möchte für seine geringe Resorptionsfähigkeit verantwortlich zu machen sein, denn wie ohne Zweifel durch das Skatol der Magen angegriffen wird, so lässt sich auch nicht die Möglichkeit einer Alteration der Darmwand von der Hand weisen. Immerhin spricht das vollständige Fehlen von Diarrhöen und der Umstand, dass man lange Zeit Hunde mit Skatol füttern kann, ohne eine Abmagerung derselben zu bemerken, gegen das Vorhandensein tiefeingreifender Ernährungsstörungen, wie sie doch die nothwendige Folge von intensiveren Erkrankungen der Darmschleimhaut sein müssten.

Unabhängig von der Bildung der Skatoxylschwefelsäure erscheint ein Theil des resorbirten Skatols im Harn als Chromogen des näher beschriebenen Farbstoffs. Es ist im Skatolharn in relativ reichlicher Menge enthalten und wird durch die ammoniakalische Gährung, wie es scheint, nicht verändert. — Die Eigenschaft des Skatolharns, links zu drehen und alkalische Kupferlösung zu reduciren, spricht dafür, dieses Chromogen als eine Glycuronsäureverbindung anzusehen, die dann, der im Anschluss an gewisse Beobachtungen Baumann's[1]) (über das Vorkommen einer anderen Säure im Indolharn neben Indoxylschwefelsäure) von Schmiedeberg[2]) aufgestellten Indoxylglycuronsäure entsprechend, als Skatoxylglycuronsäure aufzufassen wäre. Die Wirkung der Salzsäure bei der Entstehung des Skatolfarbstoffs würde dann auf einer Spaltung der genannten Verbindung in Skatoxyl und Glycuronsäure und Oxydation des Skatoxyl beruhen.

Das Gesagte gilt einstweilen ausschliesslich für die am Hundeharn nach Skatolfütterung gemachten Beobachtungen. Es steht, soweit in der Richtung überhaupt Angaben vorliegen, theilweise in Widerspruch mit den am menschlichen Harn angestellten Untersuchungen und kann wohl nicht ohne Weiteres auf denselben übertragen werden. Was wenigstens die Skatoxylschwefelsäure angeht, so scheint sie sich beim Menschen leichter zu bilden, da sie nach den oben[3]) erwähnten Mittheilungen J. Otto's unter günstigen Umnissen aus dem menschlichen Harn in verhältnissmässig bedeutender Menge gewonnen werden kann. — Der Skatolfarbstoff muss, weil das Skatol ein constantes Produkt der Darmfäulniss des Menschen ist, gleich dem Indigo als ein aus dem normalen Harn darstellbarer Farbstoff angesehen werden. Daher erübrigt es noch, mit wenigen Worten seiner Beziehungen zu einigen aus dem Harn gewonnenen rothen Farbstoffen zu gedenken, deren im Laufe der Zeit eine ganze

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. I, S. 68.
2) Archiv f. exper. Path. u. Pharm., Bd. XIV, S. 306.
3) L. c.

Reihe beschrieben worden ist. — Ohne die älteren Untersuchungen zu erwähnen, sind es besonders das von Plósz[1]) gefundene Urorubin, das Urorosein von Nencki und Sieber[2]) und Giacosa's[3]) Farbstoff, die hinsichtlich ihrer Darstellung und ihrer Eigenschaften eine bemerkenswerthe Uebereinstimmung mit dem Skatolfarbstoff zeigen und mit ihm vielleicht identisch sind. Auch der rothe Farbstoff der Uratsedimente (Uroerythrin von Heller, Purpurin von Golding Bird) dürfte als Skatolderivat anzusehen sein. Wenn diese Uebereinstimmung keine vollständige ist, wenn z. B. im Gegensatz zum Skatolfarbstoff das Urorosein in Aether unlöslich ist oder Giacosa's Farbstoff Eisen enthält, so ist das noch kein zwingender Beweis für die Verschiedenheit der genannten Farbstoffe. Denn diese Abweichungen können dadurch hervorgerufen worden sein, dass Verunreinigungen, Zersetzungsprodukte, die sich bei der Darstellung unter der Einwirkung der Salzsäure gebildet hatten, mit in den Aether oder den Amylalkohol aufgenommen worden waren. Speciell der Amylalkohol ist, wie Udránszky[4]) in einer soeben erschienenen Arbeit nachweist, für derartige Zwecke durchaus untauglich, da er an und für sich beim Erhitzen sowohl als schon in der Kälte durch die Salzsäure verändert wird und beim Abdestilliren einen amorphen braunen Rückstand hinterlässt, der leicht einen aus dem Harn gewonnenen Farbstoff vortäuschen kann.

Im Anschluss hieran theile ich das Ergebniss einer Fütterung mit der Phenylhydrazin-Brenztraubensäure mit, die zu dem Zwecke unternommen wurde, eventuell eine Indolverbindung im Harn nachweisen zu können. Dem ersten Versuchshund für die Skatolfütterung wurden 3 gr. der Sub-

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VI, S. 504; ibid., Bd. VIII, S. 85.

2) Journ. f. prakt. Chemie, Bd. XXVI, S. 333; Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XV, S. 3087.

3) Ann. di chimica e di farmacol., Serie IV, 3, S. 201; Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XX, S. 393, Referat.

4) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XI, S. 547.

stanz eingegeben. Der in reichlicher Menge gelassene Harn, spec. Gew. 1036, war durch Blutfarbstoff dunkel gefärbt, zeigte spektroskopisch die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobin, enthielt Eiweiss, drehte ca. 1° links und reducirte stark Kupferoxyd in alkalischer Lösung. Die Aetherschwefelsäuren des Harns waren nicht vermehrt, auch die nach der Vorschrift von Friedr. Müller[1]) angestellte Probe auf Paraamidophenol gab kein Resultat. Am Ende des zweiten Tages war der Hund todt. — Dies Resultat stimmt im Wesentlichen mit den von G. Hoppe-Seyler[2]) beobachteten Wirkungen des Phenylhydrazins auf den Organismus überein; auf die eminente Giftigkeit der genannten Substanz mag um so mehr hingewiesen werden, als in jüngster Zeit eine nahe verwandte Ketonsäureverbindung, das Antithermin, als Antipyreticum empfohlen worden ist.

Freiburg i. B., den 1. Aug. 1887.

Laboratorium des Prof. Baumann.

---

1) Ueber Anilinvergiftung. Deutsche med. Wochenschrift, 1887, No. 2.
2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IX, S. 34.

## Nachtrag zu den Untersuchungen über die Entwicklung von gasförmigem Stickstoff bei Fäulnissprocessen.

Von

**Alex. Ehrenberg.**

(Der Redaction zugegangen am 9. September 1887.)

In der letzten Abhandlung über den oben vermerkten Gegenstand (diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 438) haben durch ein Versehen bei der Wiedergabe des analytischen Materials im letzten Abschnitte (über Sumpfgasentwicklung, S. 466—69) aus einer grösseren Reihe von Analysen gerade diejenigen Aufnahme gefunden, welche im Journal als fehlerhaft angestrichen worden waren.

Zur Ergänzung der analytischen Belege folgen daher hier nachträglich die einschlägigen Zahlen:

### Zu Versuch XVII.

Gas, welches nach ca. 30 Tagen aufgefangen wurde, gab bei der Analyse folgende Werthe:

| | $v_1$ | Druck. | Temp. | v |
|---|---|---|---|---|
| Gas feucht gemessen . . . | 116,7 | 0,7355 | 5,4° | 84,16 |
| Nach Absorption der Kohlensäure . . . . . . . . | 32,0 | 0,7113 | 5,3° | 22,36 |
| **Uebergeführt in's Eudiometer:** | | | | |
| Gas feucht gemessen . . . | 73,9 | 0,3875 | 5,8° | 28,03 |
| + Sauerstoff . . . . . . | 227,7 | 0,5822 | 5,8° | 129,80 |
| + Luft . . . . . . . . . | 313,4 | 0,6211 | 6,0° | 190,53 |
| Nach der Verpuffung (auf Zusatz von Knallgas) . . . | 312,8 | 0,6025 | 6,0° | 184,41 |
| Nach Zulassung von Natronlauge . . . . . . . . | 301,5 | 0,6152 | 6,1° | 181,40 |

Durch Natronlauge absorbirte $CO_2 = CH_4 = 3{,}01$.

Resultat: 73,43 % Kohlensäure,
23,72 % Stickstoff,
2,85 % Sumpfgas,
100,00.

Analyse des nach ca. 60 Tagen aufgefangenen Gases:

| | v, | Druck. | Temp. | v |
|---|---|---|---|---|
| Gas feucht gemessen . . . | 116,4 | 0,7351 | 6,5° | 83,6 |
| Nach Absorption der Kohlensäure . . . . . . . . | 71,4 | 0,6724 | 6,5° | 46,9 |
| Uebergeführt in's Eudiometer: | | | | |
| Gas feucht gemessen . . . | 40,5 | 0,2835 | 6,4° | 11,22 |
| + Luft . . . . . . . . . | 246,7 | 0,4324 | 6,4° | 104,23 |
| + Sauerstoff . . . . . . | 286,3 | 0,4631 | 6,5° | 129,50 |
| Nach der Verpuffung . . . | 276,0 | 0,3972 | 6,5° | 107,10 |
| Nach Absorption der $CO_2$ . | 257,1 | 0,3821 | 6,6° | 95,90 |
| + Wasserstoff . . . . . | 318,1 | 0.5012 | 6,6° | 152,10 |
| Nach der Verpuffung . . . | 212,9 | 0,4100 | 6,8° | 88,15 |

Durch Natronlauge absorbirte $CO_2 = CG_4 = 11,20$,
Angewandtes Volumen . . . . . . . . . . = 11,22.

Der Rest besteht demnach nur aus Sumpfgas.

Resultat: 55,91 % Sumpfgas,
44,09 % Kohlensäure.

## Zu Versuch XVIII.

Analyse des nach ca. 30 Tagen aufgefangenen Gases:

| | v, | Druck. | Temp. | v |
|---|---|---|---|---|
| Gas feucht gemessen . . . | 147,5 | 0,7350 | 6,8° | 105,8 |
| Nach Absorption der Kohlensäure . . . . . . . . | 80,2 | 0,7080 | 6,8° | 55,4 |
| Uebergeführt in's Eudiometer: | | | | |
| Gas feucht gemessen . . . | 76,7 | 0,2744 | 6,5° | 20,55 |
| + Luft . . . . . . . . . | 153,9 | 0,3369 | 6,4° | 50,65 |
| + Sauerstoff . . . . . . | 184,7 | 0,3800 | 6,5° | 68,55 |
| Nach der Verpuffung (auf Zusatz von Knallgas) . . . | 180,3 | 0,3745 | 6,5° | 65,95 |
| Nach Absorption der Kohlensäure . . . . . . . . | 181,0 | 0,3655 | 6,4° | 64,64 |

Durch Natronlauge absorbirte $CO_2 = CH_4 = 1,31$.

Resultat: 47,64 % Kohlensäure,
49,02 % Stickstoff,
3,34 % Sumpfgas,

100,00.

## Analyse des nach ca. 60 Tagen aufgefangenen Gases:

| | v, | Druck. | Temp. | v |
|---|---|---|---|---|
| Gas feucht gemessen . . . | 125,4 | 0,7238 | 6,5° | 88,65 |
| Nach Absorption der Kohlensäure . . . . . . . . | 70,4 | 0,6985 | 6,5° | 48,04 |
| **Uebergeführt in's Eudiometer:** | | | | |
| Gas feucht gemessen . . . | 42,4 | 0,3476 | 6,5° | 14,41 |
| + Luft . . . . . . . . . | 304,1 | 0,4605 | 6,5° | 136,82 |
| + Sauerstoff . . . . . . | 326,6 | 0,5063 | 6,5° | 161,54 |
| Nach der Verpuffung . . . | 271,7 | 0,5003 | 6,6° | 132,70 |
| Nach Absorption der Kohlensäure . . . . . . . . . | 246,1 | 0,4924 | 6,7° | 118,27 |
| + Wasserstoff . . . . . | 331,5 | 0,5232 | 6,7° | 169,33 |
| Nach der Verpuffung . . . | 237,7 | 0,4514 | 6,8° | 104,65 |

Durch Natronlauge absorbirte $CO_2$ = $CH_4$ = 14,43,
Angewandtes Gas . . . . . . . . . . . . = 14,41.

Resultat: 54,19 % Sumpfgas,
45,81 % Kohlensäure,

100,00.

## Ueber das Schicksal des Lecithins im Körper, und eine Beziehung desselben zum Sumpfgas im Darmcanal.

Von

**Dr. Karl Hasebroek,**

Assistent an der medicinischen Klinik zu Rostock.

(Der Redaction zugegangen am 14. September 1887.)

Das Lecithin zerfällt nach A. Bokay[1]) durch das Fette zerlegende Ferment der Bauchspeicheldrüse sehr schnell und leicht in fette Säuren (Olein- oder Palmitin- oder Stearinsäure), Cholin und Glycerinphosphorsäure. Das Schicksal des Lecithins, resp. dieser Spaltungsprodukte, im Körper ist nach demselben Autor Resorption, da es ihm nicht gelang, im Alkohol- und Aetherauszuge der Fäkalstoffe auch nur Spuren von Phosphorsäure nachzuweisen; damit übereinstimmend ist die Thatsache eruirt worden, dass der Phosphorsäuregehalt des Harns nach lecithinreicher Nahrung steigt.

Dass das Lecithin zum grössten Theil als solches in den Körper übergehen sollte, ist bei der so leichten Spaltbarkeit desselben wenig wahrscheinlich, es wird sich vielmehr nach der obenerwähnten Spaltung durch das Pankreasferment um die gesonderte Aufsaugung der fetten Säuren, der Glycerinphosphorsäure und des Cholins handeln müssen.

Die fetten Säuren aus dem Lecithin verhalten sich ohne Zweifel ebenso, wie andere Fettsäuren; sie werden theilweise als Seifen, Calciumverbindungen ausgeschieden, theilweise resorbirt und weiter oxydirt zu Kohlensäure und Wasser.

---

[1]) A. Bokay, Ueber die Verdaulichkeit des Nucleins und Lecithins. Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 157.

Grösseres Interesse beansprucht das zweite Spaltungsprodukt, das Cholin.

Das Cholin hat durch die Arbeiten Brieger's über die Fäulnissalkaloide eine erhöhte Bedeutung gewonnen; die Beziehung des Cholins zum isomeren Neurin — mit dessen Nomenclatur es übrigens durchaus noch nicht genau genug genommen wird —, das Verhältniss wiederum des Neurins, als «Vinylbase», zu den giftigen Fäulnissalkaloiden, hat zu vielen Vermuthungen und Hypothesen über die Genese dieser Alkaloide Anlass gegeben. Nach vielen praktischen Erfahrungen scheint der Mutterboden der giftigen Alkaloide das Lecithin zu sein, die Substanz, die in organischen Gebilden sich überall findet, und dessen charakteristisches Spaltungsprodukt, das Cholin, man meistens neben den Giften selbst vorfindet. Ob in der That, und unter welchen Umständen die giftigen Ammoniumbasen aus dem viel weniger giftigen Cholin entstehen, ist noch nicht nachgewiesen worden.

Um so sicherer steht aber fest, dass niedere Organismen es sind, durch welche die Alkaloide gebildet werden können, und rechtfertigen diese Körper dadurch ihre Bezeichnung als «Fäulnissalkaloide».

Die Fäulniss spielt im thierischen Organismus eine bedeutende Rolle, es kommt zu dem Magen- und Pankreasferment die Einwirkung der Fäulniss als ein Drittes hinzu und schafft, eben so gut wie jene, Produkte, welche resorbirt und weiter verwandt werden. Es reicht in sehr vielen Fällen die Zeit nicht aus, dass eingeführte Nahrungsmittel vollständig resorbirbar gemacht werden, und viele Stoffe, z. B. die Cellulose, werden absolut nicht durch die Fermente dieser Organe genügend verarbeitet: hier greift die Fäulniss ein und schafft resorbirbare Substanzen.

Die Betrachtung, dass wir das Lecithin täglich in nicht unerheblicher Quantität einführen und dass es zum grössten Theil nach seiner ersten Spaltung durch das Pankreasferment im Darm weiter zur Fäulniss kommen muss, ferner, dass oben erwähnte Beziehungen des Lecithins zum Neurin be-

stehen, legte es nahe, extra corpus die Produkte zu untersuchen, die bei seiner Fäulniss entstehen, und habe ich während meiner Assistentenzeit am Phys.-chem. Institut in Strassburg die im Folgenden mitgetheilten Fäulnissversuche angestellt.

Da sich im Darm nach neueren, exakten Versuchen kaum Spuren von freiem Sauerstoff befinden, so musste auch der Fäulnissversuch extra corpus bei Abwesenheit von Sauerstoff angestellt werden; um so nothwendiger war dies, als der Sauerstoff gerade bei Fäulnissversuchen bei einer eventuellen Activirung durch Wasserstoff im status nascens sehr störend eingreift und Produkte schafft, die erst secundär durch Oxydation und Condensation entstanden, nichts mit der ursprünglichen Gährung zu thun haben.

Um ferner keine complicirenden Verhältnisse zu haben und um möglichst wenig fremde organische Zusätze zu machen, verwandte ich als Fäulnisserreger Kloakenschlamm, der nach den Untersuchungen von Hoppe-Seyler starke fermentative Eigenschaften besitzt, ohne viele organische Bestandtheile zu enthalten. Der Schlamm stammte aus der Ill, war gesiebt, geschlämmt und hatte lange verschlossen im Dunkeln gestanden, wodurch er frei von Würmern und Infusorien wird, ohne seine Fermentwirkung einzubüssen. 10 cbcm. dieses, für die Versuche in Wasser zertheilten Schlammes enthielten 0,024 gr. organische Bestandtheile, bestimmt durch den Gewichtsverlust des in 10 cbcm. enthaltenen, getrockneten Schlammes nach dem Veraschen.

Die Versuche wurden in Standgläsern gemacht, wie sie von Hoppe-Seyler für Gährungszwecke construirt und näher beschrieben worden sind[1]), unter fast völliger Anfüllung derselben, um den atmosphärischen Sauerstoff möglichst auszuschliessen, und in der von demselben Autor angegebenen Weise[2]) mit aufwärts und abwärts gebogenen, unter Quecksilber mündenden Glasröhren versehen, um die

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. I, S. 561.

2) Eod. loc.

gasförmigen Produkte auffangen und analysiren zu können. Zur Neutralisation der vielleicht entstehenden Säuren setzte ich Calciumcarbonat zu.

Ich untersuchte in Folgendem die Fäulnisseinwirkung

I. auf Cholin,

II. auf Glycerinphosphorsäure.

### I. Fäulniss von Cholin.

Ich verwandte nicht die freie Base, sondern die salzsaure Verbindung, die ich in bekannter Weise aus dem Lecithin (aus Eidotter) mir darstellte, durch Zerlegen der vorher bereiteten Platinverbindung[1]). Da es mir darauf ankam, die Fäulniss vollständig bis zu Ende zu führen, so verwandte ich eine relativ geringe Menge salzsauren Cholins, 1,17 gr., berechnet aus 2,589 gr. der durch Schwefelwasserstoff zerlegten Platinverbindung.

Versuch I. Angesetzt am 15. August 1886:

| | | |
|---|---|---|
| Salzsaures Cholin . | 1,17 gr. | |
| Schlamm . . . . | 200 cbcm. | = 0,48 gr. organ. Substanz. |
| $CaCO_3$ . . . . . | 2,0 gr. | |
| Wasser . . . . . | 700,0 gr. | |

Die Gährung begann nach kurzer Zeit schon bei Zimmertemperatur, wurde nach einigen Wochen lebhafter; bei einer Temperatur von 36° C. wurde sie jedoch so stürmisch und reichlich, dass ich mit den Analysen des nur in kleinen Absorptionsröhren zur Zeit aufgefangenen Gases bald nicht mehr folgen konnte; ich sammelte daher während der Zeit der stürmischen Entwicklung die einzelnen Portionen und vereinigte sie unter Quecksilber in einen grösseren Glaskolben. Gegen Ende der Entwicklung fing ich das Gas wieder gesondert auf.

Die zur Analyse verwandten Absorptionsröhren sind nach Bunsen's Vorschrift eingerichtet und der Inhalt in cbcm. mit Quecksilber calibrirt. Die Analysen selbst wurden

---

1) Hoppe-Seyler's Chem. Analyse, V. Aufl., S. 164.

nach der Bunsen'schen Methode ausgeführt, die gebildete $CO_2$ im Absorptionsrohr mittelst Kalikugel entfernt, eine Portion des restirenden Gases im Eudiometer mittelst Knallgas verpufft; die im Eudiometer durch die Verbrennung gebildete $CO_2$ bestimmte ich durch Absorption mittelst 7% Natronlauge. Auf vorhandenen $O_2$ prüfte ich mit Hülfe einer mit alkalischer Pyrogallussäure angefeuchteten Kugel von Papier-maché.

Ich theile hier aus einer grossen Reihe von Analysen 3 derselben mit, und zwar aus den verschiedenen Zeiten der Gasentwicklung je eine:

$V_{,}$ = abgelesenes Volumen,
$V$ = auf 0° und 1 m. Dr. reducirtes Volumen.

## I. Analyse.

Gas aus der ersten Zeit der Entwicklung.

| | V, | Dr. | Temp. ° | V |
|---|---|---|---|---|
| Gas, feucht gemessen . . . | 58,829 | 0,6925 | 11,4 | 39,110 |
| Nach Absorption der $CO_2$ . | 47,126 | 0,6593 | 11,0 | 29,868 |
| Nach Absorption des $O_2$ . . | 46,632 | 0,6645 | 10,7 | 29,815 |
| Uebergeführt in's Eudiometer: | | | | |
| Luft . . . . . . . . . . | 97,765 | 0,4694 | 11,4 | 44,742 |
| + Gas . . . . . . . . . | 110,929 | 0,5215 | 10,8 | 54,619 |
| Nach der Explosion. . . . | 101,456 | 0,4776 | 10,3 | 46.700 |
| Nach der Absorption der $CO_2$ | 93,660 | 0,4734 | 10,4 | 42,713 |

$V_k = 3,987$; $V_c = 7,919$.

Resultat:
$CO_2$ 23,63 %.
$O_2$ 0,13 »
$CH_4$ 30,48 »
$N_2$ 45,76 »

Da der Werth 0,13% innerhalb der Fehlergrenze liegt, so ist das Gasgemenge bereits als $O_2$-frei anzusehen.

## II. Analyse.

Probe von den vereinigten Gasportionen aus der Zeit der lebhaftesten Entwicklung.

| | $V_t$ | Dr. | Temp. ° | V |
|---|---|---|---|---|
| Gas, feucht gemessen . . . | 62,026 | 0,7168 | 12,0 | 42,592 |
| Nach der Absorption der $CO_2$ | 50,530 | 0,6913 | 12,0 | 33,970 |
| **Uebergeführt in's Eudiometer:** | | | | |
| Luft . . . . . . . . . . | 104,745 | 0,4731 | 12,0 | 47,471 |
| + Gas . . . . . . . . . | 110,171 | 0,5051 | 11,4 | 53,415 |
| Nach der Explosion. . . . | 96,165 | 0,4485 | 10,7 | 41,503 |
| Nach der Absorption der $CO_2$ | 85,153 | 0,4329 | 10,7 | 35,474 |

$V_k = 6{,}029$; $V_c = 11{,}912$.

Durch Na(OH) absorb. $CO_2$ entsprechend $CH_4$ = 6,029.
Angewandtes Gasvolumen . . . . . . . . . = 5,944.

Resultat: $CO_2$ 20,24 %.
$CH_4$ 70,76 »

## III. Analyse.

Gas aus der letzten Zeit der Entwicklung.

| | $V_t$ | Dr. | Temp. ° | V |
|---|---|---|---|---|
| Gas, feucht gemessen . . . | 50,775 | 0,6956 | 9,6 | 34,119 |
| Nach der Absorption der $CO_2$ | 42,756 | 0,6684 | 9,6 | 27,976 |
| **Uebergeführt in's Eudiometer:** | | | | |
| Luft + $O_2$ . . . . . . . . | 122,240 | 0,5583 | 9,5 | 65,959 |
| + Gas . . . . . . . . . | 132,507 | 0,5952 | 9,5 | 76,224 |
| Nach der Explosion. . . . | 111,524 | 0,5175 | 9,5 | 55,777 |
| Nach der Absorption der $CO_2$ | 98,593 | 0,4776 | 9,2 | 45,653 |

$V_k = 10{,}124$; $V_c = 20{,}447$.

Durch Na(OH) resorb. $CO_2$ entsprechend $CH_4$ = 10,124.
Angewandtes Gasvolumen . . . . . . . . . = 10,265.

Resultat: $CO_2$ 18,00 %.
$CH_4$ 82,00 »

Zur sicheren Feststellung der Thatsache, dass nicht doch etwa Spuren von H im Gasgemenge vorhanden seien, die der Analyse durch unvermeidliche Fehlerquellen bei der Explosion entgangen wären, untersuchte ich eine Probe des von $CO_2$ befreiten Gases in dem von Hoppe-Seyler modificirten Winkler'schen Apparat zur Bestimmung von kleinsten Mengen H neben $CH_4$, in welchem der Wasserstoff durch Ueberleiten über feinvertheiltes erwärmtes Palladium absorbirt und bestimmt wird[1]).

| | V, | Dr. | Temp. ° | V |
|---|---|---|---|---|
| Gas + Luft . . . . . . | 48,005 | 0,5779 | 9,9 | 26,772 |
| Nach Ueberleit. üb. Palladium | 48,367 | 0,5693 | 8,5 | 26,744 |

Resultat: H nicht vorhanden.

Die Gährung sistirte fast vollständig gegen Mitte November und setzte ich jetzt noch 2,0 gr. Calciumcarbonat zu, um eventuell gebildete, gährungshemmende Säure zu neutralisiren. Es zeigte sich jedoch von jetzt an überhaupt keine erhebliche Gasentwicklung mehr, und selbst nach langem weiteren Stehen bis zum Januar hatten sich nur minimale Mengen von Gas entwickelt. Die Gährung war also ohne Zweifel als beendet zu betrachten.

Die Gesammtmenge der gasförmigen Produkte betrug ca. 1 Liter bei Zimmertemperatur und gewöhnlichem Druck.

Es ist dies eine so grosse Quantität, dass der bei Weitem grösste Antheil dem zersetzten Cholin zuzurechnen ist; auch der ganze Verlauf der Gährung: die lebhafte Entwicklung und das ziemlich plötzlich wieder Aufhören derselben nach einigen Wochen, lassen es zweifellos erscheinen, dass in der That das Cholin vergohren war.

Die Analysen II und III stimmen gut überein und sprechen durch ihr annähernd constantes Verhältniss der $CO_2 : CH_4$ für einen Gährungsvorgang, der specifisch quan-

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, XI. Bd., IV. Heft, S. 259.

titativ verlaufen ist. Der $CO_2$-Werth ist jedenfalls in Wirklichkeit höher, wie der gefundene, da dieselbe in der vergohrenen Flüssigkeit theilweise absorbirt, theilweise noch an Ammoniak gebunden ist, wie nach der Untersuchung des Rückstandes anzunehmen ist.

Ende Januar öffnete ich die Flasche und schritt zur Untersuchung der vergohrenen Flüssigkeit.

Der Inhalt hatte keinen intensiven Geruch, es war der des Kloakenschlammes; die Gährung war vollständig beendet, da auch bei Erschütterungen keine Gasblasen mehr aus dem Bodensatz entwichen. Die Flüssigkeit war klar, nur verdunkelt durch fein vertheilten Schlamm an den Wandungen des Gefässes, der bei der heftigen Gasentwicklung mitgerissen war; auf der Oberfläche befand sich eine feine Haut.

Die mikroskopische Untersuchung ergab zahlreiche kugelige Gebilde, einzelne Zoogloea-Colonieen; ferner undeutlich krystallinische Körper, keine Bacterien. Im Niederschlag, am Boden der Flasche, Bacterien in geringer Menge, die jedoch weder sofort, noch nach längerer Berührung mit der Luft auf dem Objektträger Bewegung zeigten.

Die vom Bodensatz abfiltrirte Flüssigkeit, fast 900 cbcm., reagirte sehr schwach sauer, fast neutral, war klar, schwach gelblich gefärbt und trübte sich nach einigem Stehen (Calciumcarbonat). Mehrere Cubikcentimeter der Flüssigkeit einem Kaninchen unter die Haut injicirt, hatten nicht die geringsten Veränderungen im Wohlbefinden des Thieres zur Folge.

Die Flüssigkeit wurde der Destillation unterworfen, es ging ein stark alkalisches Destillat über, welches nach Uebergang von ca. 300 cbcm. neutral wurde. Die Destillation wurde unterbrochen, der Vorlageinhalt mit $HCl$ schwach angesäuert und über $H_2SO_4$ verdunstet. Es hinterblieb eine deutlich krystallinische Masse (A).

Der Retortenrückstand wurde mit $HCl$ schwach angesäuert und wieder destillirt. Das sehr schwach saure Destillat, welches mit $AgNO_3$ keine Fällung gab, wurde mit $Ba(OH)_2$

versetzt, etwas digerirt, durch $CO_2$ vom Ba befreit, filtrirt und eingedampft. Es hinterblieb jedoch nur ein ganz minimaler Rückstand, der schwerlich Anspruch auf ein Bariumsalz machen konnte und daher nicht weiter zu analysiren war (a).

Der Rückstand im Kolben (B) wurde fast zum Trocknen eingedampft und mit Alkohol extrahirt: es löste sich alles bis auf Spuren. Die Lösung gab mit Platinchlorid einen Niederschlag, der sorgfältig ausgewaschen und getrocknet 0,1982 gr. betrug. Nach nochmaligem Lösen des Niederschlages in Wasser und Umkrystallisiren erhielt ich eine geringe Menge schön krystallisirter, goldgelber Octaeder.

0,1020 gr Subst. hinterliessen 0,0451 Pt = 44,22%.
Platinsalmiak verlangt . . . . . . . . . 44,2.

Der Verdunstungsrückstand des mit HCl angesäuerten Destillates (A) löste sich ebenfalls ganz in Alkohol und gab mit Platinchlorid starke Fällung, die gut ausgewaschen und getrocknet 0,6694 gr. ergab; nach nochmaligem Lösen in warmem Wasser krystallisirte die grösste Menge des Platindoppelsalzes nach kurzem Stehen in schönen Octaedern aus.

0,1774 gr. Subst. gaben 0,079 Pt = 44,53%.
Platinsalmiak verlangt . . . . . . 44,2.

Die weiter eingedampfte Mutterlauge lieferte noch eine geringe Menge krystallinischen Rückstand.

0,1378 gr. Subst. gaben 0,0578 Pt = 41,94%.
Methylammoniumplatinchlorid verlangt 41,68% Pt.

Das Filtrat der Platinfällung von A wurde durch Schwefelwasserstoff vom Platin befreit, bis auf ein geringes Volumen eingedampft und mit Goldchlorid versetzt: es zeigte sich kein Niederschlag, auch nach längerem Stehen nicht.

Es war also in der vergohrenen Flüssigkeit in überwiegender Menge Ammoniak vorhanden, in geringer Quantität die erste substituirte Ammoniumbase. Von höher substituirten basischen Produkten war mit Sicherheit nichts vorhanden, nicht einmal das Trimethylamin, wie man nach der Zersetzungsweise des Cholins mittelst Alkalien, und aus dem Vor-

kommen des Trimethylamins in dem Mutterkorn, in welchem es nach Brieger aus dem Cholin herrührt, hätte erwarten dürfen. Ob es sich nun als Durchgangsprodukt vielleicht doch gebildet hat und nur durch die lange und vollständige Vergährung weiter verändert ist, steht dahin; als Beweis hierfür die geringe Menge gefundenen Methylamins zu Hülfe zu ziehen, ist wohl nicht erlaubt. Es bleibt diese Frage somit noch zu beantworten.

Nach der Constitution des Cholins, welche die $C_2H_4$—OH-Gruppe verlangt, müsste ausser dem Ammoniak noch ein Körper vorhanden sein, der den Glycolen angehört; es war mir natürlich unmöglich, bei dieser geringen Quantität des angewandten Cholins einen dieser Gruppe zugehörigen Körper nachzuweisen.

Von Wichtigkeit scheint mir zu sein, dass die untersuchte Flüssigkeit durchaus keine giftigen Eigenschaften besass: es sind also mit Sicherheit keine giftigen Cholin-, resp. Neurinderivate vorhanden gewesen. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass der $O_2$ eine Rolle spielt bei dem Entstehen der giftigen Alkaloide, und dass bei Abwesenheit von $O_2$ überhaupt die Fäulnissalkaloide nicht entstehen. Brieger liess bei seinen Macerations- und Fäulnissversuchen den Sauerstoff möglichst hinzutreten, und gelang es doch Schmiedeberg, durch Oxydation von Cholin mittelst Salpetersäure das giftige Muskarin darzustellen.

Was nun die gasförmigen Produkte bei der Cholinfäulniss betrifft, so ist die grosse Menge Methan beachtenswerth und deswegen besonders interessant, als sie einen neuen Gesichtspunkt für die Entstehung des Sumpfgas im Darmcanal liefern kann.

Man ist früher immer geneigt gewesen, als die ausschliesslichen Quellen des Sumpfgas im Darm das Eiweiss und die Cellulose zu betrachten. Ruge[1]) sowohl wie Tappeiner[2]) erhielten bei Fütterungsversuchen mit Fleisch

[1]) Sitzungsberichte d. k. Akad. d. Wissensch., Wien, Bd. XLIV, 1862.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VI, S. 432 ff.

am Menschen und Schwein $CH_4$ im Darmcanal. Die Cellulose liefert bei der Fäulniss Methan (Hoppe-Seyler) und nach Tappeiner auch bei der Digestion mit den Fermenten des Pansen, der Haube und des Dickdarmes vom Rind. (Die letztere Tappeiner'sche Beobachtung wird aber wohl nicht auf die Fermente dieser Organe zurückzuführen sein, sondern auf die Einwirkung von Spaltpilzen, wie bei der Fäulniss, welche in diesem Fall mit dem Futter und aus der Luft in den Verdauungstractus hineingelangen.) Ferner schliesst Tappeiner aus seinen Fütterungsversuchen mit Kohl und Erbsenmehl, nach deren Eingabe er bei Gänsen reichlich im Darm $CH_4$ vorfand, auf die Cellulose als Bildungsmaterial von $CH_4$ und ist geneigt, die Cellulose als Hauptquelle des Methans anzunehmen. Zu diesen Ansichten ist in neuerer Zeit hinzugekommen, als weitere Quelle der Sumpfgasbildung die Substanzen anzusehen, welche bei der Fäulniss Essigsäure liefern, da nach den Resultaten der Versuche von Hoppe-Seyler[1]) Acetat durch Fäulniss bei Abwesenheit von Sauerstoff umgesetzt wird in Carbonat, unter Bildung von Sumpfgas:

$$(C_2H_3O_2)_2Ca + 2\,H_2O = (CO_3H)_2Ca + 2\,CH_4.$$

Die Cellulose ist ungemein widerstandsfähig und wird eigentlieh nur bei Pflanzenfressern mit langem Darmcanal einigermassen ausgenutzt; bei Fleischfressern und beim Menschen jedoch findet man bei Pflanzennahrung in den Fäkalstoffen fast die ganze Menge der eingeführten Cellulose wieder. Damit übereinstimmend erfolgt auch nach Hoppe-Seyler's klassischen Versuchen über die Gährung der Cellulose[2]) die fermentative Umwandlung derselben in $CO_2$ und $CH_4$ nur sehr schwierig und langsam.

Ich will durchaus nicht bestreiten, dass die Cellulose bei Herbivoren im Darm eine gewisse Menge Methan liefert, bei Carnivoren und beim Menschen kann aber nach den oben erwähnten Umständen die Cellulose unmöglich

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XI, Heft 6, S. 566 u. 567.
2) Eod. loc., Bd. X, S. 401 ff.

erhebliche Mengen von Sumpfgas liefern, und muss man hier die Essigsäure resp. ihre Muttersubstanzen als Quelle für das Methan mit ansehen.

Nach meiner Untersuchung liefert das Cholin sehr leicht und reichlich durch die Fäulniss Methan: es wurden nur 1,17 gr. der salzsauren Verbindung verwandt und daraus fast $^{4}/_{5}$ Liter Sumpfgas entwickelt. Es liegt also sehr nahe, auch in dem Cholin eine Substanz zu berücksichtigen, die im Darm zu $CH_4$-Bildung Veranlassung geben kann. Es ist nach der Constitution des Cholins nicht wahrscheinlich, dass die Sumpfgasbildung nach intermediärer Essigsäurebildung erfolgt ist, vielmehr glaube ich das Cholin als ganz gesonderte Quelle im Darm ansehen zu dürfen. —

Das Lecithin, die Muttersubstanz des Cholins, ist sehr verbreitet und führen wir mit der Nahrung bedeutende Mengen desselben ein; es kommt in allen entwicklungsfähigen Zellen vor, im Pflanzensamen, im Getreide, Mais, Leguminosen, dann im Fleisch (nach Weyl und Zeitler enthält der frische Kaninchenmuskel 0,69 % Lecithin im Mittel)[1]) und besonders reichlich im Eidotter, und sei hiermit eine kleine Rechnung gestattet:

Nach Parke[2]) befindet sich an Lecithin im unbebrüteten Dotter:

| | |
|---|---|
| a) im Aetherextrakt . . . | 6,809 %. |
| b) im Alkoholextrakt . . . | 3,917 » |
| | 10,726 %. |

| | |
|---|---|
| Ein Ei wiegt im Durchschnitt[3]). . . . . . . . . . | 53 gr. |
| Davon kommen auf das Dotter . . . . . . . . . . | 16 » |
| Hierin Lecithin . . . . . . . . . . . . . . . . . | 1,7 » |
| Dem Lecithin entsprechend (17,3 %) salzsaures Cholin | 0,29 » |

Rechnet man nun die grossen Mengen von Vegetabilien und Fleisch, die eingeführt werden, noch hinzu, so kann sich die Lecithineinfuhr unter Umständen sehr hoch stellen. Das

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VI, S. 563.

2) Hoppe-Seyler, Physiol. Chemie, S. 782.

3) J. König, Die menschlichen Nahrungs- u. Genussmittel, 2. Aufl., Bd. II, S. 221.

Lecithin muss durch Magen- und Pankreaseinwirkung gespalten werden, und damit ist in dem Cholin die Substanz vorhanden, die weiterhin Methan zu liefern vermag. Das wirkende Agens, die Fäulniss ist im ganzen Darm vorhanden und damit sind die Bedingungen gegeben zur Bildung von Methan.

Mit derselben Berechtigung, mit der man die Cellulose nach Fäulnissversuchen extra corpus als eine Quelle des Sumpfgases annimmt, kann man auch dem Cholin diese Eigenschaft vindiciren. Es ist ja möglich, dass ein Theil des Lecithins wie die Fette von den Chylusgefässen unverändert resorbirt wird — was man von der Cellulose nicht behaupten kann —, die Hauptmenge dieser leicht veränderlichen Substanz wird aber jedenfalls zum grössten Theil gespalten; da die Fäulniss das Lecithin auch in Fettsäuren, Glycerinphosphorsäure und Cholin zu spalten vermag, so ist ein weiteres Moment gegeben, um etwa der Pankreasspaltung entgangenes Lecithin zu zerlegen und damit Cholin zu schaffen.

Bei den Ruge'schen und Tappeiner'schen Fütterungsversuchen ist das Lecithin nicht berücksichtigt worden, damit liegen Untersuchungen intra corpus über die Beziehungen des Lecithins zum Sumpfgas im Darm noch nicht vor; ich denke in nächster Zeit diesbezügliche Versuche zu machen, die zum Abschluss über diese Verhältnisse führen müssen.

## II. Versuch.

### Fäulniss von Glycerinphosphorsäure.

In derselben Weise, wie beim ersten Versuch, und zu gleicher Zeit mit dem Ansetzen der Cholin-Fäulniss, wurde 3,5 gr. glycerinphosphorsaurer Kalk — dargestellt aus dem nach üblicher Weise gewonnenen glycerinphosphorsauren Baryt — der Fäulniss überlassen.

| | |
|---|---|
| Glycerinphosphorsaur. Kalk | 3,5 gr. |
| Schlamm . . . . . . . | 200,0 cbcm. = 0,480 gr. organ. Subst. |
| $CaCO_3$ . . . . . . . . | 2,0 gr. |
| Wasser . . . . . . . . | 700,0 gr. |

Während vieler Wochen ruhigen Stehens bei Zimmertemperatur zeigte sich keine Spur von Gasentwicklung, und

auch bei permanenter Temperatur von 36° C. wurde die Gasentwicklung nur eine spärliche, so dass es während fast eines halben Jahres kaum gelang, die zur Analyse nöthigen Gasmengen zu erhalten.

Ich theile hier in extenso die Analysen mit.

Die Volumina sind reducirt auf 0° und 1 Met. Dr.

| | I. Analyse. | II. Analyse. |
|---|---|---|
| Gas, feucht gemessen . . . . . . . | 31,706 | 24,914 |
| Nach der Absorption der $CO_2$ . . . . | 26,494 | 20,728 |

Uebergeführt in's Eudiometer, nachdem kein $O_2$ und H gefunden war:

| | | |
|---|---|---|
| Luft + $O_2$. . . . . . . . . . . . | 55,613 | 67,599 |
| + Gas . . . . . . . . . . . . . | 67,032 | 79,530 |
| Nach der Explosion . . . . . . . | 58,690 | 62,964 |
| Nach der Absorption der $CO_2$ . . . . | 54,596 | 54,804 |

Ad I $V_k = 4{,}094$; $V_c = 8{,}342$.
Ad II $V_k = 8{,}160$; $V_c = 16{,}566$.

| Resultat: | I. | II. |
|---|---|---|
| $CO_2$ | 16,44 | 16,80. |
| $CH_4$ | 27,22 | 56,09. |
| $N_2$ | 56,34 | 27,11. |

Da die Gasentwicklung so minimal war, trotz angewendeter Temperatur von 36°, so ist mit Sicherheit anzunehmen, dass die Glycerinphosphorsäure nicht zur Gährung gelangt ist. Vielmehr ist es wahrscheinlich, dass der Schlamm selbst die Gasmenge geliefert hat, die, bei den verwandten 0,480 gr. organischer Substanz überhaupt, unmöglich reichlich sein konnte.

Es war derselbe Schlamm wie bei Versuch I, mithin das Ferment zur Fäulniss nicht unwirksam; es bleibt somit nur übrig, anzunehmen, dass die Glycerinphosphorsäure eben nur schwer, resp. gar nicht, die Fäulniss eingeht und es nicht zu einer Abspaltung des Glycerins und damit weiterer Zerlegung kommen kann. Hierfür spricht die Thatsache, dass

man sie unverändert im Harn nach Sotnischewsky[1]) noch findet. Wie die aromatischen Körper, welche eine ausgesprochene Widerstandsfähigkeit gegen die Fäulniss besitzen, sich beim Durchgang durch den Körper ohne verändert zu werden — abgesehen natürlich von ihrer Paarung mit anderen Körpern — erhalten, so muss man es auch von der Glycerinphosphorsäure annehmen, und eben deshalb, weil sie im Darm sich unverändert länger aufhalten kann, wird sie als solche resorbirt. In den Geweben weiterhin wird jedenfalls ein Theil in Glycerin und Phosphorsäure zerlegt, wie viel, wird wohl schwer zu ermitteln sein.

---

Nach den Ergebnissen dieser Untersuchung glaube ich in Verbindung mit Bokay's Angaben über das Verhalten des Lecithins im Verdauungstractus Folgendes annehmen zu dürfen:

I. Das Lecithin wird in den oberen Verdauungswegen gespalten in:

a) Fettsäuren,
b) Cholin,
c) Glycerinphosphorsäure.

II. Die fetten Säuren werden theilweise verseift und ausgeschieden, theilweise resorbirt.

III. Das Cholin zerfällt weiter unter Bildung von $CO_2$, $CH_4$ und $NH_3$.

IV. Die Glycerinphosphorsäure wird zum grössten Theil unverändert resorbirt.

Rostock, im September 1887.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IV, S. 215.

# Ueber das Mucin der Submaxillardrüse.

Von

**Olof Hammarsten.**

(Der Redaction zugegangen am 29. September 1887.)

## Erste Abhandlung.

### Darstellung, Zusammensetzung und Eigenschaften des Submaxillarismucins.

Die erste, eingehendere Untersuchung über das Mucin der Submaxillardrüse rührt von Obolensky[1]) her. Die von ihm angewandte Methode zur Reindarstellung dieses Mucins war folgende. Die Speicheldrüsen wurden, nachdem sie möglichst rein auspräparirt und gewaschen worden, frisch mit Glasstückchen in einer Reibschale zerstossen und zerrieben, die Masse in Wasser eingetragen, über Nacht stehen gelassen, dann filtrirt und der Rückstand wieder mit Wasser behandelt. Die Filtrate wurden mit überschüssiger Essigsäure gefällt, der Niederschlag erst anhaltend mit Wasser und etwas Essigsäure (bis das Filtrat durch Ferrocyankalium nicht mehr getrübt wurde), dann mit heissem Alcohol ausgewaschen und zuletzt getrocknet. Das so dargestellte Mucin enthielt 6,55 % Asche, darunter 4,11 % Glaspulver, welches bei der Filtration mit der zähen Mucinlösung durch das Papier hindurch gedrungen war. Der eigentliche Aschegehalt dieses Mucins betrug sonach 2,44 % und die Zusammensetzung desselben war folgende:

| | |
|---|---|
| C | 52,31—52,08, |
| H | 7,22— 7,14, |
| N | 11,84—11,90, |
| O | 28,63—28,88. |

1) Pflüger's Archiv, Bd. IV, 1871, S. 336.

Schwefel fand Obolensky nicht in diesem Mucin, und der Gehalt desselben an Phosphor entsprach demjenigen der Asche.

In der letzten Zeit hat Landwehr werthvolle Beiträge zur Kenntniss der Mucine geliefert und dabei auch dem Submaxillarismucin eine besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Landwehr[1]) extrahirte die fein zerschnittenen Submaxillardrüsen mit Wasser, filtrirte durch Leinen, fällte mit Essigsäure, löste wieder in einer 1—2‰igen Lösung von kohlensaurem Natron, goss die Flüssigkeit vom Ungelösten ab und fällte mit Essigsäure.

Im Gegensatz zu Obolensky fand er das Submaxillarismucin schwefelhaltig. In einem, bald nach dem Ausfällen in Arbeit genommenen Präparate fand er 0,505 und in einem anderen, welches während mehrerer Tage durch öfteres Decantiren gereinigt worden war, 0,86 % Schwefel. Ueber die Zusammensetzung des Submaxillarismucins im Uebrigen hat Landwehr in dem ersten Aufsatze keine weiteren Angaben gemacht; in einer neulich erschienenen Abhandlung[2]) theilt er aber beiläufig die Resultate zweier von ihm ausgeführten Analysen des Submaxillarismucins mit.

Dieses von ihm analysirte Mucin war in der Weise gewonnen worden, dass der von Blut möglichst befreite Drüsenbrei mit einer 1procentigen Lösung von Natriumcarbonat ausgezogen und der filtrirte Auszug mit Essigsäure im Ueberschuss gefällt wurde. Das Gerinnsel wurde vier Mal mit verdünnter Essigsäure behandelt, wobei letztere immer eine halbe Stunde auf dem Coagulum unter wiederholtem Durchkneten desselben blieb. Das Mucin wurde dann mit Alcohol, mit Aether und schliesslich mit absolutem Alcohol ausgewaschen, im Vacuum getrocknet und bei 120° C. bis zum constanten Gewicht erwärmt.

---

1) Diese Zeitschrift, Bd. V, S. 371.

2) H. Landwehr, Ueber die Bedeutung des thierischen Gummis. Pflüger's Archiv, Bd. XXXIX, S. 193.

Die Elementaranalyse gab für dieses Präparat folgende Mittelwerthe:

| | |
|---|---|
| C | 49,93 % |
| H | 7,27 % |
| N | 13,98 %. |

Vergleicht man mit einander die von Obolensky und Landwehr für die Zusammensetzung des Submaxillarismucins vom Rinde gefundenen Zahlen:

| | C: | H: | N: | S: |
|---|---|---|---|---|
| nach Obolensky | 52,20 | 7,18 | 11,87 | 0,0 |
| » Landwehr | 49,93 | 7,27 | 13,98 | 0,5--0,86, |

so ersieht man sogleich, dass die Uebereinstimmung keine gute ist. Die Abweichung in dem Kohlenstoffgehalte beträgt nämlich 2,27 und in dem Stickstoffgehalte 2,11 %.

Die Zusammensetzung des reinen, durch die chemischen Manipulationen nicht veränderten Submaxillarismucins ist also noch nicht bekannt. Für die Kenntniss von der Natur wie für das Studium der Zersetzungsproducte dieses Mucins muss es doch eine unabweisbare Forderung sein, diese Substanz wenn möglich in reinem Zustande darzustellen, und auf diese Aufgabe habe ich desshalb auch vor Allem mein Augenmerk gerichtet. Ich habe zwar auch die Zersetzungsproducte des Submaxillarismucins zum Gegenstand meiner Untersuchungen gemacht, und ich werde in einer folgenden Abhandlung meine diesbezüglichen Beobachtungen mittheilen; für jetzt will ich mich aber darauf beschränken, über meine Darstellungsmethode wie auch über die Zusammensetzung und die Eigenschaften des Submaxillarismucins zu berichten.

Sämmtliche hier unten mitzutheilenden Untersuchungen und Angaben beziehen sich ausschliesslich auf das aus den Submaxillardrüsen vom Rinde gewonnene Mucin.

Einer Reindarstellung des Submaxillarismucins stehen nicht unbedeutende Schwierigkeiten im Wege. Bei der Extraction der Drüsen mit Wasser wird die Flüssigkeit von Formelementen mehr oder weniger getrübt. Beim Filtriren durch gewöhnliches Papier können letztere mit dem zähen Schleime durch das Papier hindurchgehen, wie dies in den

Versuchen von Obolensky mit dem feinen Glaspulver der Fall war. Ein Filtriren durch Leinen ist darum auch ganz verwerflich. Wenn man aber ein nicht zu dickflüssiges Wasserextract macht, kann dies durch ein ganz dickes Papier vollkommen klar und frei von Formelementen filtriren. Ich benutze desshalb auch zu meinen Arbeiten ein ganz besonders dickes, schwedisches Filtrirpapier, durch welches die Filtration allerdings ziemlich langsam von statten geht, während sie dagegen, bei Verwendung von ganz fehlerfreien Filtren, ein vorzüglich klares, von Formelementen ganz freies Filtrat liefert. Die in einem filtrirten, anscheinend ganz klaren Drüsenextract etwa noch vorhandenen, aufgeschwemmten, spärlichen Formelemente setzen sich natürlich nur sehr langsam zum Boden und können demnach der Aufmerksamkeit leicht entgehen. Ich habe mich desshalb auch durch 6stündiges Centrifugiren meiner Filtrate wiederholt davon überzeugt, dass mit Hülfe von fehlerfreien Filtren aus dem obengenannten, dicken Papiere von Formelementen ganz freie Wasserextracte der fraglichen Drüsen erhalten werden können.

Als Extractionsmittel benutze ich ausschliesslich Wasser. Wegen der grossen Empfindlichkeit des Submaxillarismucins gegen Kalkwasser oder verdünnte Alkalien überhaupt, eine Empfindlichkeit, von der ich später weiter sprechen werde, ist es nach meiner Erfahrung ganz unstatthaft, eine Extraction mit halbgesättigtem Kalkwasser oder mit alkalihaltigem Wasser vorzunehmen. Die Anwendung von alkalihaltigem Wasser hat ausserdem auch die Unannehmlichkeit, dass das Drüsenextract dadurch bedeutend reicher als sonst an einer zweiten, von Essigsäure fällbaren Proteinsubstanz wird, auf deren Eigenschaften ich in der Folge näher eingehen werde.

Wenn man also mittels Filtration durch ein sehr dichtes Papier ein von Formelementen ganz freies Wasserextract erhalten hat, so handelt es sich dann zunächst darum, aus diesem Filtrate das Mucin mit einer Säure auszufällen. Hierzu wurde bisher wohl immer, nach dem Vorgange älterer Forscher, die Essigsäure benützt, und ich habe auch lange ausschliesslich dieser Säure mich bedient. In der That können auch

die Mineralsäuren hierzu weniger geeignet erscheinen, weil das Submaxillarismucin in einem kleinen Ueberschuss derselben ausserordentlich leicht löslich ist, während ein Ueberschuss von Essigsäure keine Auflösung bewirkt.

Wird das mucinhaltige Drüsenextract mit Essigsäure gefällt, so kann der Mucinniederschlag, je nach der Art und Weise, wie der Essigsäurezusatz geschieht, ein verschiedenes Aussehen annehmen. Setzt man auf einmal einen Ueberschuss von Säure zu der Lösung, so windet sich das Mucin beim Umrühren mit dem Glasstabe als eine zähe Masse um ihn herum, und es kann das Mucingerinnsel als ein zusammenhängender grosser Klumpen herausgehoben werden. Setzt man dagegen die Essigsäure nur sehr allmählich und unter Umrühren zu, so wird die Flüssigkeit stark sauer und opalescirend, bevor noch eine Fällung entsteht, und beim Umrühren kann das Mucin durch weiteren, vorsichtigen Zusatz von Essigsäure als ein feinflockiger Niederschlag, welcher sich allmählich zum Boden setzt, gewonnen werden. Man könnte meinen, dass diese letztere Verfahrungsweise vorzuziehen sein sollte, da ein Auswaschen des Mucins in diesem Falle leichter zu bewirken sein müsse als in jenem, wo es als ein grosser zäher Klumpen sich ausscheidet. Beide Verfahrungsweisen kommen doch etwa auf Eins heraus, denn in beiden Fällen ist ein weiteres Auswaschen mit Essigsäure unbedingt nothwendig, und dabei ballt sich auch das feinflockig ausgefällte Mucin, wenn es seine typische Beschaffenheit nicht verloren hat, rasch zu einem zähen, zusammenhängenden Klumpen zusammen.

Hat das feinflockig ausgefällte Mucin keine Neigung, durch die Essigsäureeinwirkung in eine zähe Masse sich umzuwandeln, kann ein Auswaschen auf dem Filter versucht werden; aber in diesem Falle kann man auch ganz sicher sein, dass das Submaxillarismucin aus irgend einem Grunde seine typische Beschaffenheit mehr oder weniger eingebüsst hat.

Das Auswaschen des Mucins mit essigsäurehaltigem Wasser wird nach der älteren Vorschrift fortgesetzt, bis das Filtrat von Ferrocyankalium nicht mehr getrübt wird; aber

ein solches Auswaschen führt nach meiner Erfahrung nicht zum Ziele. Das mit Essigsäure ausgefällte Submaxillarismucin enthält nämlich, so weit meine Erfahrung reicht, ohne Ausnahme als Verunreinigung ein Nucleoalbumin, von dem ich später sprechen werde und welches von dem Mucin sehr hartnäckig zurückgehalten wird. Erst durch sehr anhaltende und energische Essigsäurebehandlung kann diese Verunreinigung entfernt werden, und bei zu kurz dauernder Einwirkung des essigsäurehaltigen Wassers, wie z. B. beim Auswaschen auf dem Filtrum, gehen nur Spuren dieses Nucleoalbumins in Lösung. Hierzu kommt noch, dass dieses Nucleoalbumin, wenn es nur in sehr kleiner Menge in dem sauren Filtrate enthalten ist, bei der Ferrocyankaliumprobe leicht übersehen werden kann. Während seine saure Lösung von einem Minimum des Reagenses getrübt wird, kann sie nämlich bei Zusatz auf einmal von mehreren Tropfen der Ferrocyankaliumlösung einige Zeit klar bleiben.

Die ältere Darstellungsweise des Mucins — durch Ausfällen mit Essigsäure und Auswaschen auf dem Filtrum mit essigsäurehaltigem Wasser, bis zur Nichtfällbarkeit des Filtrates mit Ferrocyankalium — ist also überhaupt nur in dem Falle für das Submaxillarismucin brauchbar, wenn dies schon theilweise verändert worden ist, und sie liefert keine Garantie für die Reinheit des Präparates.

Wegen der Zähigkeit des ausgefällten, typischen Mucins ist es darum auch richtiger, das Coagulum längere Zeit mit verdünnter Essigsäure unter wiederholtem Durchkneten in Berührung zu lassen, und diesen Weg hat auch Landwehr eingeschlagen. Er behandelte nämlich das Mucin viermal mit verdünnter Essigsäure, wobei letztere unter wiederholtem Durchkneten des Coagels immer eine halbe Stunde mit dem letzteren in Berührung blieb.

Selbst dieses Verfahren ist doch nach meiner Erfahrung lange nicht genügend. Ich habe in den letzten 3 Jahren gar zu viele vergebliche Versuche zur Reindarstellung des Mucins nach verschiedenen Methoden gemacht, und ich habe dabei oft das Mucin mehrere Tage mit verdünnter Essigsäure unter

wiederholtem Durchkneten des Mucinklumpens behandelt, ohne die obengenannte Verunreinigung vollständig entfernen zu können. Das essigsäurehaltige Wasser gab stets eine, wenn auch schwache, Trübung bei vorsichtigem Zusatz von Ferrocyankalium. In der That ist es auch, in Anbetracht der ausserordentlich zähen Beschaffenheit des typischen Mucincoagels, von vorneherein zu erwarten, dass die Essigsäure erst durch sehr anhaltende und energische Einwirkung die verunreinigende Substanz aus dem Gerinnsel vollständig extrahiren werde.

Damit das Mucin mit einer möglichst grossen Oberfläche mit der Essigsäure in Berührung kommen werde, habe ich es auch versucht, den Mucinklumpen erst mit einer grossen Menge von reinem, ausgeglühten Quarzsand zu zerreiben, dann wiederholt mit Essigsäure unter Durchkneten zu behandeln, die Essigsäure durch Auswaschen mit Wasser zu entfernen, das Mucin wieder mit Hülfe von möglicht wenig Alkali in Wasser zu lösen und dann von Neuem mit Essigsäure zu fällen. Selbst auf diese Weise konnte ich indessen durch mehrtägige Essigsäurebehandlung das Mucin nicht vollständig reinigen und nach allen diesen vergeblichen Versuchen, welche viel Zeit und Arbeit gekostet hatten, musste ich einen anderen Weg einschlagen. Ich versuchte nämlich das Mucin durch wiederholtes Auflösen in alkalihaltigem Wasser und Ausfällen mit Essigsäure zu reinigen.

Eine unabweisbare Bedingung für die Anwendbarkeit eines solchen Verfahrens ist die, dass das Mucin einer solchen Behandlung unterworfen werden könne, ohne dabei seine typischen Eigenschaften im Geringsten zu verlieren. Dies ist nun in der That auch wohl möglich. Das Submaxillarismucin ist zwar, wie ich wiederholt gesehen und später des Näheren zeigen werde, ausserordentlich empfindlich gegen die Einwirkung von verdünnten Alkalien; wenn aber jeder, selbst der allergeringste Alkaliüberschuss vermieden wird, kann das Mucin wiederholt aufgelöst und ausgefällt werden, ohne die Spur einer Veränderung zu zeigen. Ich habe also in mehreren Fällen dasselbe Mucin 2—4 mal ausgefällt und dabei doch

zuletzt ein Coagulum von der gewöhnlichen zähen Beschaffenheit erhalten, und dieses Coagulum könnte mit Hülfe von möglichst wenig Alkali wieder in Wasser zu einer, physikalisch wie chemisch, ganz typischen Mucinlösung aufgelöst werden. Ueber die Art und Weise, wie man bei dem Wiederauflösen des Mucins mit Hülfe von Alkalien verfahren soll, werde ich später, bei Besprechung derjenigen Methode, welche allein als brauchbar sich erwiesen hat, des Näheren berichten.

Da es bei einiger Vorsicht gar nicht schwierig ist, das Mucin mit unveränderten Eigenschaften auszufällen und wieder aufzulösen, lag es mir also ob, zu prüfen, in wie weit die Reindarstellung des Mucins durch ein solches Verfahren möglich sei. Zu dem Ende habe ich einige, nach diesem Verfahren dargestellte Präparate nach vorheriger Alcohol-Aetherbehandlung nach bekannten Methoden elementaranalytisch untersucht. Die Stickstoffbestimmungen sind nach der Kjeldahl'schen Methode ausgeführt, nachdem ich bei einer Voruntersuchung gefunden hatte, dass diese Methode für das Mucin dieselben Zahlen wie die Dumas'sche gab. Die 4 Präparate No. 1, 2, 3 und 4 waren resp. 1, 2, 3 und 4 mal mit Essigsäure gefällt worden. Die Zusammensetzung, auf aschefreie Substanz bezogen, war folgende:

| | C: | H: | N: | |
|---|---|---|---|---|
| No. 1. | 50,76 | 6,83 | 13,31<br>13,30 | 13,305 %. |
| » 2. | 50,49 | 6,84 | 13,27 | 13,27 %. |
| » 3. | 50,44 | 6,78 | 12,90<br>13,15 | 13,03 %. |
| » 4. | 50,33 | 6,77 | 12,75<br>12,75 | 12,75 %. |

Wie man sieht, nimmt mit dem wiederholten Ausfällen und Auflösen des Mucins mit Essigsäure und Alkali der Kohlen- wie der Stickstoffgehalt regelmässig ab. Es könnte dies entweder von einer theilweisen Zersetzung des Mucins in Folge der chemischen Manipulationen herrühren, oder auch darin seinen Grund haben, dass das Mucin von einer anderen kohlen- und stickstoffreicheren Substanz verunreinigt sei, welche bei der wiederholten Ausfällung immer zum Theil

entfernt wurde. Gegen die erste Annahme sprach die anscheinend ganz unveränderte physikalische und chemische Beschaffenheit des Mucins und es blieb also die letztere die wahrscheinlichere.

Das Mucin kann auch mit Chlorwasserstoffsäure ausgefällt werden, wenn auch die Anwendung dieser Säure, wegen der Leichtlöslichkeit des Submaxillarismucins in einem Ueberschuss derselben, etwas Vorsicht erfordert. Da es nun denkbar war, dass die Reindarstellung des Mucins bei Anwendung von dieser Säure leichter gelingen würde, habe ich auch zwei, durch 2—3maliges Ausfällen des Mucins mit dieser Säure (wie oben nach der Essigsäuremethode) dargestellte Mucinpräparate analysirt. Die Ergebnisse waren folgende:

| | C: | H: | N: | |
|---|---|---|---|---|
| No. 1 (2 mal gefällt) | 50,24 % | 6,76 % | 13,18<br>13,15 | 13,165 %. |
| No. 2 (3 mal gefällt) | — | — | 12,99 | 12,99 %. |

Der Stickstoffgehalt war in diesen Präparaten höher als in denjenigen, welche 3—4 Mal mit Essigsäure gefällt worden waren, während der Kohlenstoffgehalt etwas niedriger war. Diese Methode schien also keine bessere Resultate zu geben.

Ich kehrte darum wieder zu der Essigsäuremethode zurück und stellte mir ein neues, 4 mal mit Essigsäure gefälltes Mucin dar. Dieses Präparat wurde von mir nur mit Rücksicht auf den Stickstoffgehalt untersucht, und auffallenderweise war dieser ganz derselbe wie in dem oben (S. 170) angegebenen Präparate, d. h. 12,75 %. Ich glaubte darum auch nun endlich eine brauchbare Methode zur Reindarstellung des Submaxillarismucins gefunden zu haben; aber aus einem anderen Grunde musste ich doch gewisse Zweifel an der Reinheit dieses Präparates hegen. Von diesem, zu der Stickstoffbestimmung verwendeten Mucin hatte ich auch eine grössere Menge in noch frischem, feuchtem Zustand zu qualitativen Versuchen benutzt und dabei beobachtet, dass es beim Kneten mit 1—2procentiger Essigsäure, dieser letzteren nicht ganz unbedeutende Mengen einer mit Ferrocyankalium fällbaren Substanz abgab.

Es führte mich dies zu der Frage, ob doch nicht auch das 4 Mal gefällte Submaxillarismucin eine verunreinigende Substanz enthalte, oder ob das Mucin durch anhaltende Einwirkung der Säure eine Zersetzung derart erfahre, dass eine durch Ferrocyankalium fällbare Substanz allmählich von ihm sich abspalte.

Um diese Frage zu entscheiden, fällte ich aus dem mit Wasser wie gewöhnlich bereiteten Drüsenextracte das Mucin mit Essigsäure, wobei das Gerinnsel wie gewöhnlich um den Glasstab sich herumwindete. Das Gerinnsel rührte ich dann mit einer sehr grossen Menge von reinem, vorher ausgeglühten Quarzsand aus und behandelte diese Masse mit 1 procentiger Essigsäure Tag und Nacht, unter wiederholtem Durchkneten während des Tages. Nach Verlauf von 10 mal 24 Stunden gelang es mir endlich auf diese Weise so weit zu kommen, dass bei neuem Durchkneten mit Essigsäure die saure Flüssigkeit von Ferrocyankalium nicht mehr getrübt wurde.

Dieses Mucin wurde nun durch Kneten mit Wasser und Decantiren von Essigsäure befreit und in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali fast vollständig gelöst. Die von dem Bodensatze getrennte Flüssigkeit wurde durch Centrifugiren von ungelösten Mucinpartikelchen getrennt. Sie war fadenziehend, schleimig. Sie wurde zum zweiten Male mit Essigsäure gefällt und das Mucin schied sich dabei als eine braungefärbte, zähe Masse aus. Nach dem Auswaschen mit Wasser und darauffolgender Alcohol-Aetherbehandlung wurde dieses Präparat analysirt und dabei folgende Zusammensetzung — wie gewöhnlich auf aschefreie Substanz berechnet — gefunden:

| C: | H: | N: |
|---|---|---|
| 49,21 | 6,92 | 12,47. |

Das Ergebniss dieses Versuches war ein auffallendes. Der Kohlenstoffgehalt war 1 % und der Stickstoffgehalt etwa 0,3 % niedriger als in dem 4 mal mit Essigsäure gefällten Mucin, und es forderte dies also zu neuen Untersuchungen auf.

Das auf die nun geschilderte Weise gereinigte Mucin gab eine schleimige, wenn auch, wenn ich mich nicht geirrt

habe, vielleicht nicht ganz so fadenziehende Lösung wie das ganz typische Mucin, und ebenso hatte es vielleicht nicht in so hohem Grade wie dieses die Neigung, um den Glasstab zu einer festen Masse sich herumzuwinden. Ich will darum auch nicht ganz die Möglichkeit in Abrede stellen, dass das wie oben gereinigte Mucin in Folge der sehr anhaltenden Essigsäureeinwirkung ein wenig verändert worden war; dass es aber keine wesentliche und durchgreifende Veränderung erfahren hatte, dafür bürgte die in allem Wesentlichen sonst typische Beschaffenheit desselben. Selbst durch sehr anhaltende Essigsäureeinwirkung wird also das Mucin nicht wesentlich verändert, und vor Allem war es durch diesen Versuch klar geworden, dass die in den früheren Versuchen in dem essigsauren Wasser gefundene, durch Ferrocyankalium fällbare Substanz nicht von einer Zersetzung des Mucins in Folge der Essigsäurewirkung herrühren konnte. Es blieb also nur die Möglichkeit übrig, dass beim Ausfällen des Mucins mit Essigsäure eine andere, kohlen- und stickstoffreichere Substanz gleichzeitig mit niedergerissen werde, und es handelte sich also darum, die Art dieser Substanz wenn möglich zu erforschen und eine Methode zu ihrer Entfernung ausfindig zu machen.

Die Natur dieser Substanz betreffend glaubte ich auf Grund meiner früheren Beobachtungen wenigstens einige Vermuthungen hegen zu dürfen. Ausser den eigentlichen Mucinsubstanzen, den Globulinen und den Albuminaten giebt es nämlich noch eine Gruppe von Proteinsubstanzen, welche von Essigsäure gefällt werden, nämlich die Nucleoalbumine. Das Verhältniss der zu dieser letztgenannten Gruppe gehörigen Stoffe zu überschüssiger Essigsäure ist ein wechselndes. Einige werden leichter, andere schwieriger von überschüssiger Essigsäure gelöst; alle sind sie aber, so weit meine bisherigen Erfahrungen reichen, zum Unterschied von den Mucinen löslich in überschüssiger Essigsäure, während sie schwerlöslicher in dieser Säure als die Globuline bezw. die Albuminate sind. Nach meinen (noch nicht abgeschlossenen und veröffentlichten) Untersuchungen über diese Stoffe finden sie sich nicht nur

fast überall im Thierkörper, sondern sie stellen oft einen sehr wesentlichen Bestandtheil des Protoplasmas dar und sie finden sich darum auch regelmässig in den Drüsen.

Ich hatte also Grund zu der Annahme, dass in den Speicheldrüsen neben dem Mucin auch Nucleoalbumin sich finden würde; und da ein solches Nucleoalbumin — wenn es in den Drüsen vorkäme — auch von der Essigsäure gefällt werden müsste, lag die Annahme nahe, dass gerade ein solcher Stoff es sei, welcher von dem Mucin als Verunreinigung mit niedergerissen worden war.

Es handelte sich also nur darum, zu zeigen, ob überhaupt ein Nucleoalbumin in der Submaxillardrüse vorhanden sei.

Wenn ein Nucleoalbumin in das Wasserextract der Drüse übergeht und dann wenigstens zum Theil von der Essigsäure gleichzeitig mit dem Mucin niedergeschlagen wird, so ist es leicht verständlich, dass die Reindarstellung einer für die Untersuchung genügenden Menge dieses Nucleoalbumins aus dem mit Essigsäure vom Mucin befreiten Extracte kaum möglich sein soll, trotzdem dass, wie ich später zeigen werde, ein solches Nucleoalbumin wirklich in dem ursprünglichen Wasserextracte sich vorfindet. Ich musste also ein anderes Verfahren wählen und ich ging dabei von folgender Betrachtung aus.

Das von Landwehr isolirte Drüsenmucin enthielt bedeutend mehr Stickstoff als die von mir analysirten Präparate, und es ist also ersichtlich, dass jenes Mucin vor Allem sehr reich an der verunreinigenden, stickstoffreicheren Substanz gewesen sein muss. Wenn man sich nun vergegenwärtigt, dass Landwehr sein Mucin ebenfalls mit Essigsäure fällte und dass er zur Extraction der Drüsenmasse eine 1procentige Lösung von Natriumcarbonat verwendet hatte, während ich als Extractionsmittel nur Wasser benutzte, so liegt die Annahme sehr nahe, dass man in dem Natriumcarbonate ein geeignetes Mittel zur Gewinnung von grösseren Mengen der fraglichen Verunreinigung haben muss. Von diesen Erwägungen ausgehend, verfuhr ich nun in der Weise, dass ich die fein

zerhackte Drüsenmasse erst mit kaltem Wasser erschöpfte, bis die Extracte keine Ausscheidung von Mucin nach Essigsäurezusatz zeigten. Nachdem also das Mucin (nebst einem Theile der zweiten Proteinsubstanz) aus den Drüsen entfernt worden war, zog ich die letzteren mit einer 1procentigen Lösung von krystallisirtem Natriumcarbonat ($Na_2CO_3 + 12 H_2O$) aus. Das mit Natriumcarbonat erhaltene Extract (welches stets bei strenger Winterkälte bereitet wurde) war dünnflüssig, gar nicht schleimig und lieferte mit Essigsäure in mässigem Ueberschuss einen rein weissen, flockigen Niederschlag, welcher durch Auflösung in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali und Wiederausfällen mit Essigsäure gereinigt wurde. Dieser Stoff löste sich weniger leicht in überschüssiger Essigsäure, löste sich aber sehr leicht in Chlorwasserstoffsäure von 0,1 % HCl oder sogar weniger. Diese salzsäurehaltige Lösung konnte tagelang bei 40° C. ohne sichtbare Veränderung digerirt werden, während die mit Pepsin versetzte salzsaure Lösung innerhalb einiger Stunden sich zu trüben anfing und nach etwa 12 Stunden einen reichlichen, feinflockigen Niederschlag von s. g. Nucleïn abgesetzt hatte. Dieser Stoff, auf dessen Eigenschaften ich in diesem Aufsatze nicht des Näheren eingehen kann, verhielt sich auch in allen anderen Beziehungen wie die s. g. Nucleoalbumine und muss wohl also zu dieser Gruppe von Proteinsubstanzen gerechnet werden.

Dieses Nucleoalbumin, welches gegen 17 % Stickstoff enthält, findet sich nun, wie ich nach einem anderen Verfahren habe zeigen können, nicht nur in dem mit alkalihaltigem, sondern auch in dem mit destillirtem Wasser allein dargestellten Drüsenextracte; und da es von Essigsäure gefällt wird, ist es leicht verständlich, dass es von dem gleichzeitig ausfallenden Mucin mit niedergerissen werden muss. Da es nun weiter von überschüssiger Essigsäure zwar gelöst, aber doch nicht gerade leicht gelöst wird, ist es auch ersichtlich, dass die vollständige Entfernung dieser Verunreinigung aus dem zähen, fast kautschukähnlichen Mucinklumpen recht schwierig sein soll. Von Ferrocyankalium wird dieses

Nucleoalbumin in essigsaurer Lösung gefällt; und es kann wohl also keinem Zweifel unterliegen, dass gerade dieses Nucleoalbumin es sei, welches als Verunreinigung in dem Submaxillarismucin bei der gewöhnlichen Darstellung desselben sich vorfindet.

Nach den nun mitgetheilten Erfahrungen ist es offenbar, dass die bisher zur Reindarstellung der Mucine geübte Methode, d. h. die Essigsäuremethode, für das Submaxillarismucin kaum brauchbar sein kann. Ich musste darum auch einen ganz neuen Weg einschlagen.

Ich habe oben gesagt, dass das Submaxillarismucin in sehr verdünnter Salzsäure (0,1—0,2 %) leicht löslich ist, namentlich wenn es frisch gefällt mit der Säure behandelt wird. Verdünnt man nun eine solche, saure Mucinlösung mit dem 3—4fachen Volumen Wasser oder mehr, so scheidet sich das Mucin wieder mit unveränderten Eigenschaften aus. Ganz anders verhält sich das oben genannte, in den Drüsen vorkommende Nucleoalbumin. Dieses löst sich ebenfalls sehr leicht in verdünnter Salzsäure von der obengenannten Stärke; wenn aber diese Lösung mit destillirtem Wasser verdünnt wird, bleibt das Nucleoalbumin fortwährend gelöst.

Geht man von diesen Verhältnissen aus, so ist es offenbar, dass sie einem weit rationelleren Verfahren zur Reindarstellung des Submaxillarismucins zu Grunde gelegt werden können. Fällt man nämlich das Mucin aus salzsaurer Lösung durch Verdünnung mit Wasser aus, so kann man hoffen, dass das Nucleoalbumin in Lösung bleiben werde; und da von ihm wohl höchstens diejenigen kleinen Mengen, welche in der von dem Mucincoagulum eingeschlossenen Flüssigkeit enthalten sind, als Verunreinigung zurückgehalten werden, könnte man weiter hoffen, dass diese unbedeutende Verunreinigung durch wiederholtes Auflösen und Ausfällen vollständig entfernt werden würde.

Ich stellte mir also ein neues Mucinpräparat auf folgende Weise dar. Das von Formelementen ganz freie, filtrirte, klare Wasserextract der Drüsen versetzte ich unter Umrühren

mit Salzsäure bis zu 0,1 %, wobei der zuerst auftretende, reichliche Mucinniederschlag sich fast sogleich wieder löste. Die saure Lösung wurde unmittelbar darauf mit 4 Vol. destillirtem Wasser versetzt und darauf umgerührt, wobei das Mucin wie gewöhnlich um den Glasstab sich so fest herumwindete, dass es einen einzigen, zähen Klumpen darstellte. Das Mucin wurde nun unter Umrühren rasch wieder in Salzsäure von 0,1 % gelöst, die Lösung rasch filtrirt und zum zweiten Male mit destillirtem Wasser gefällt. Das Mucin war auch diesmal vollkommen typisch. Es wurde nun mit Wasser vollständig ausgewaschen und für die Analyse mit Alcohol und Aether behandelt. Die Stickstoffbestimmung ergab in diesem Präparate, auf aschefreie Substanz berechnet:

| | |
|---|---|
| a) | 12,33 % N, |
| b) | 12,31 % N, |
| als Mittel | 12,32 % N. |

Da ich einen Theil von diesem, noch feuchten, mit Wasser ausgewaschenen, aber mit Alcohol noch nicht behandelten Mucin mit 1- oder 2procentiger Essigsäure mehrere Stunden unter wiederholtem Durchkneten behandelte, konnte ich nach dieser Zeit in der sauren Flüssigkeit mit Ferrocyankalium keine Spur einer Proteinsubstanz nachweisen. Ich hatte also allen Grund anzunehmen, dass die Entfernung des Nucleoalbumins mir wirklich gelungen sei.

Ich wiederholte nun diesen Versuch mit einem neuen Drüsenextracte und fällte wie oben 2 mal mit Wasser. Dieses neue Präparat hatte indessen einen Gehalt von 12,52 % N, also 0,2 % mehr als das vorige, was zuerst etwas auffallend mir erschien. Der Grund dieses abweichenden Verhaltens wurde mir doch bald klar. Um auf einmal eine grössere Menge des Mucins zu gewinnen, hatte ich 15 Liter Drüsenextract in Arbeit genommen, und da diese Menge also mit etwa 60 Liter Wasser verdünnt werden sollte, glaubte ich, aus öconomischen Rücksichten, ungestraft gewöhnliches Wasserleitungswasser zu der Ausfällung nehmen zu können. Dies war auch der einzige Unterschied, welcher zwischen meinem Verfahren in dem früheren und in diesem Versuche bestand;

und da ich übrigens in beiden Fällen mit derselben Genauigkeit gearbeitet hatte, musste ich den Grund der abweichenden Resultate in der Verwendung von Wasserleitungswasser suchen. Nun enthält das hiesige Wasserleitungswasser ziemliche Mengen von Calciumcarbonat; und es war also klar, dass die Salzsäure bei der Verdünnung mit diesem Wasser eine theilweise Neutralisation erfahren hatte, welche zu einer theilweisen Ausfällung des Nucleoalbumins vielleicht geführt hätte. Um die Berechtigung dieser Annahme zu prüfen, machte ich mir eine Lösung von Submaxillarisnucleoalbumin in Salzsäure von 0,1 % und versetzte je 1 Vol. dieser Lösung mit je 4 Vol. von destillirtem bezw. von Wasserleitungswasser. Die mit destillirtem Wasser verdünnte Lösung blieb klar, die andere dagegen wurde sogleich opalescirend und setzte binnen Kurzem einen flockigen Niederschlag von Nucleoalbumin ab.

Allem Anscheine nach rührte also der etwas höhere Stickstoffgehalt des zweiten Präparates daher, dass es, in Folge der Anwendung von Wasserleitungswasser zu seiner Darstellung, von ein wenig Nucleoalbumin verunreinigt worden war. Ich habe diesen Versuch auch nur darum angeführt, damit nicht Andere, welche grössere Mengen Mucin darstellen wollen, durch Anwendung von Wasserleitungswasser vielleicht zu unbefriedigenden Resultaten kommen werden.

Ich habe oben gesagt, dass in dem Wasserextracte der Drüsen neben dem Mucin auch etwas Nucleoalbumin enthalten ist, und ich habe oben angedeutet, dass der Nachweis von dieser Substanz in dem Extracte mir auch gelungen ist. Es gelang mir dies durch vorsichtige, theilweise Neutralisation der salzsäurehaltigen Flüssigkeit, aus welcher das Mucin durch Verdünnung mit destillirtem Wasser vorher entfernt worden war. Hierbei schied sich das fragliche Nucleoalbumin allmählich als ein weisser, feinflockiger Niederschlag von den obengenannten Eigenschaften aus.

Zur Ausfällung des Mucins aus der salzsauren Lösung muss also destillirtes Wasser unbedingt verwendet werden. Dass das auf diese Weise durch zweimalige Ausfällung ge-

wonnene Mucin ganz frei von anderen, in Essigsäure löslichen Proteinsubstanzen ist, lässt sich, wie ich oben bemerkt habe, leicht zeigen. In wie weit das nach dieser neuen Methode dargestellte Mucin im Uebrigen als ein reines Mucin anzusehen sei, kann wohl nur aus den bei der Elementaranalyse gewonnenen Resultaten erschlossen werden. Zu dem Ende habe ich 7 verschiedene Präparate, welche resp. 2, 3, 4 und 5 mal mit Wasser aus der salzsäurehaltigen Lösung gefällt worden waren, analysirt, und ich glaube, dass die bald hierunten mitzutheilenden Resultate genügende Beweise für die Reinheit des Mucins liefern werden.

Bevor ich diese Resultate mittheile, muss ich doch zuerst einige theoretische Einwendungen besprechen, welche gegen die neue Methode gemacht werden können, und dann die Methode selbst genauer beschreiben. Das Wesentlichste der neuen Methode besteht darin, dass das Mucin in überschüssiger verdünnter Salzsäure gelöst und aus dieser Lösung mit Wasser gefällt wird; und es fragt sich also, ob nicht etwa das Mucin durch die freie Säure verändert werden könne.

Gegen diese Annahme ist nun von theoretischer Seite einzuwenden, dass die Proteinsubstanzen, während sie im Allgemeinen äusserst empfindlich gegen die Einwirkung von verdünnten Alkalien sind, gegen die Einwirkung von verdünnten Säuren bei niedrigeren Temperaturen eine ziemlich grosse Resistenz zeigen. Während also das Auflösen des Mucins in Salzsäure von 0,1—0,2 % HCl schon a priori weit weniger gefährlich als das Auflösen desselben in Kalkwasser, sei es anch in halbgesättigtem, erscheinen muss, liefert in der That die physikalisch wie chemisch ganz typische Beschaffenheit des nach der neuen Methode dargestellten Mucins einen schlagenden Beweis für die Brauchbarkeit dieser Methode. Selbst das 5 mal mit Wasser aus salzsaurer Lösung gefällte Mucin hat eine ganz typische Beschaffenheit und liefert dementsprechend mit einem Minimum von Alkali physikalisch wie chemisch ganz typische Mucinlösungen.

Um indessen diese Frage auch von einer anderen Seite prüfen zu können, habe ich durch Bestimmung des Stick-

stoffgehaltes verschiedener Präparate die Einwirkung einer Salzsäure von 0,15 % zu prüfen mich bemüht. Ich stellte mir zu dem Ende durch 4malige Ausfällung mit Wasser aus Salzsäure von 0,15 % ein Mucin dar, von dem ein Theil wie gewöhnlich direct für die Analyse vorbereitet wurde. Der Rest wurde in Salzsäure von 0,15 % gelöst und die Lösung bei etwa + 2 à 3° C. filtrirt. Nach 24 Stunden wurde ein Theil des Filtrates und nach 48 Stunden der Rest desselben mit Wasser gefällt, wobei also die 2 letzten Proben 5 mal ausgefällt worden waren. Diese 2 Proben, welche die Eigenschaften des typischen Mucins zeigten, wurden mit Wasser gewaschen, mit Alcohol und Aether behandelt und dann analysirt. Das Präparat No. 1 war also 4, die Präparate No. 2 und 3 dagegen 5 mal gefällt. No. 2 war einer 24-stündigen, No. 3 dagegen einer 48stündigen Einwirkung der Salzsäure (von 0,15 %) ausgesetzt worden. Die Resultate waren folgende:

| | | |
|---|---|---|
| No. 1 | enthielt | 12,29 % N, |
| » 2 | » | 12,32 % N, |
| » 3 | » | 12,30 % N. |

Wenn ich mit diesen Zahlen diejenige Beobachtung zusammenstelle, dass das mit Wasser aus Salzsäure gefällte Mucin nicht nur eine ganz typische Beschaffenheit hat, sondern auch mit möglichst wenig Alkali fadenziehende, anscheinend ganz typische Mucinlösungen giebt, glaube ich auch damit den Beweis geliefert zu haben, dass die Einwirkung der verdünnten Salzsäure keine nachweisbare Veränderung des Mucins bewirkt. Diese Behauptung gilt indessen, wie ich schon jetzt ausdrücklich hervorhebe, nur für die hier angegebenen, niedrigen Säuregraden, wie auch nur für eine verhältnissmässig niedrige Temperatur. Ich werde nämlich in einem folgenden Aufsatze zeigen, dass das Mucin bei Körpertemperatur und, wenn auch langsamer, auch bei Zimmertemperatur von verdünnter Salzsäure allmählich verändert und zerspaltet wird. Ob die neue Methode auch während der wärmeren Jahreszeit brauchbar ist, kann ich nicht sagen.

Wenn das Submaxillarismucin eine ziemlich grosse Resistenz gegen die Einwirkung verdünnter Salzsäure zeigt, so verhält es sich dagegen den verdünnten Alkalien gegenüber ganz anders. Von sehr verdünnten Alkalien — etwa 0,1 % NaOH oder weniger —, wie auch von Kalkwasser oder halbgesättigtem Kalkwasser wird das Submaxillarismucin sehr leicht verändert; und die zur Darstellung der Mucine oft benutzte Methode, das Mucin in Kalkwasser aufzulösen oder mit Kalkwasser aus den Geweben auszuziehen, ist für das Submaxillarismucin nicht zu empfehlen. Ich habe genau ausgewaschenes Submaxillarismucin in halbgesättigtem Kalkwasser bei Zimmertemperatur gelöst und dabei wiederholt gesehen, dass die typische Beschaffenheit des Mucins im Laufe von 12—18 Stunden verloren gehen kann, so dass das Mucin nunmehr von überschüssiger Essigsäure feinflockig und nicht wie eine zähe zusammenhängende Masse gefällt wird. Hand in Hand mit dieser Veränderung der physikalischen Beschaffenheit geht auch eine Zersetzung des Mucins unter schwacher Ammoniakentwickelung von Statten. Trotz dieser Abspaltung von Ammoniak, welche allerdings nur schwach und nur bei geeigneter Versuchsanordnuug zu beobachten ist, enthält auffallender Weise das so veränderte, mit Essigsäure gefällte Mucin nicht weniger, sondern im Gegentheil mehr Stickstoff als das typische. Um diesen, anscheinend paradox klingenden Satz zu beweisen, will ich hier ein Beispiel anführen. Ein mit Wasser aus salzsäurehaltiger Lösung 3 mal gefälltes Mucin, von dem ein Theil zur Analyse verwendet wurde und dabei einen Gehalt von 12,34 % Stickstoff zeigte, wurde noch feucht nach vollständigem Auswaschen mit Wasser in halbgesättigtes Kalkwasser eingetragen, worin es bald gelöst wurde. Die nicht vollständig gefüllte Flasche wurde mit einem Korkstopfen, in welchem ein feuchtes rothes Lackmuspapier eingeklemmt war, genau geschlossen und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach etwa 3 Stunden fing das Reagenspapier allmählich an sich schwach zu bläuen und es wurde allmählich ganz blau. Die schleimige Beschaffenheit der Lösung nahm allmählich

ab, und nach 24 Stunden war sie dünnflüssig, gar nicht fadenziehend.

Die Flüssigkeit wurde nun mit überschüssiger Essigsäure gefällt, der Niederschlag vollständig ausgewaschen und für die Analyse vorbereitet. Dieses veränderte Mucin hatte einen Gehalt von 13,43 % N, d. h. 1,1 % mehr als das ursprüngliche.

Auf dieses Verhalten werde ich ausführlicher in einem folgenden Aufsatze über die Zersetzungsproducte des Mucins eingehen, und hier will ich nur die Ursache dieses auffallenden Verhaltens ganz kurz angeben. Diese Ursache liegt darin, dass das Submaxillarismucin durch die Einwirkung von selbst sehr verdünnten Alkalien eine Spaltung erfährt, wobei — unter Abspaltung von ein wenig Ammoniak — einerseits eine stickstoffreichere, den Acidalbuminaten etwas näher stehende, von Essigsäure fällbare und andererseits eine stickstoffärmere, mehr peptonähnliche Substanz entsteht. Je nach der Intensität der Alkalieinwirkung fällt diese albuminatähnliche Substanz rein oder mit nicht zersetztem Mucin vermischt bei dem Essigsäurezusatz aus; und dem entsprechend kann auch ihr Stickstoffgehalt ein wechselnder sein. Immer aber ist er grösser als derjenige des ursprünglichen Mucins.

Nachdem ich nun über die Einwirkung der verdünnten Säuren und Alkalien auf das Submaxillarismucin das Wichtigste angegeben habe, dürfte ich zu einer genaueren Beschreibung der von mir angewandten, neuen Darstellungsmethode übergehen können.

Die Speicheldrüsen werden zuerst von anhängendem Fett- und Bindegewebe, wie auch und besonders von den von Blut gefärbten Theilen befreit. Sie werden dann möglichst fein zerhackt oder zerschnitten, mit Wasser abgewaschen und dann in so viel Wasser zerrührt, dass ein ziemlich dünnflüssiges, filtrirbares Extract erhalten wird. Das Filtrat muss ganz klar sein und darf nach mehrstündigem Centrifugiren keine Formelemente oder feste Partikelchen abgesetzt haben. Ebenso wenig darf es von Blutfarbstoff gefärbt sein, denn

dieser wird von dem Mucingerinnsel wenigstens zum Theil stets aufgenommen. Wenn die Drüsen nicht genügend blutfrei sind, ist es am besten, das erste, blutfarbstoffhaltige Extract wegzuwerfen und nur die folgenden, welche allerdings ärmer an Mucin sind, in Arbeit zu nehmen.

Die klaren Filtrate werden nun unter Umrühren mit so viel Salzsäure versetzt, dass der Gehalt an HCl 0,1—0,15 % wird. Man beobachtet hierbei, wie das Mucin sich erst ausscheidet und fast sogleich wieder gelöst wird. Nachdem dies geschehen ist, fügt man die vorher abgemessene, 3—5fache Menge destillirten Wassers hinzu und rührt um. Es scheidet sich hierbei das Mucin wieder als eine zähe, faserige Masse aus, welche um den Glasstab sich herumwindet, so dass sie als ein zäher, blass braungelblich gefärbter Klumpen herausgenommen werden kann. Dieser Klumpen wird nun in Salzsäure von 0,1—0,15 % eingetragen, von welcher er (unter Umrühren) leicht wieder gelöst wird. Diese Lösung wird bei niedriger Temperatur, wenn nöthig, filtrirt und zum zweiten Male mit Wasser gefällt. Durch 2maliges Ausfällen kann das Mucin rein gewonnen werden, aber ein wiederholtes Auflösen in Säure und Ausfällen mit Wasser schadet andererseits auch nicht.

Bezüglich der Menge Salzsäure, welche zur Wiederauflösung gewonnen werden soll, können keine allgemeingültige Angaben gemacht werden, denn dies hängt wesentlich von dem Reichthum des ursprünglichen Extractes an Mucin und also von der Grösse des mit Wasser ausgeschiedenen Gerinnsels ab. Im Allgemeinen habe ich mich bemüht, nicht zu grosse Mengen verdünnter Säure zur Wiederauflösung des Mucins zu nehmen, da ich, obwohl ich keine schädliche Wirkung davon gesehen habe, einen unnöthigen Ueberschuss von Säure vermeiden wollte. Löst man eine kleine Menge Mucin in einer grossen Menge der verdünnten Salzsäure, so sind zur Ausfällung nicht nur bedeutend grössere Mengen Wasser nöthig, sondern die Ausfällung gelingt schwieriger und die Ausbeute an Mucin wird eine geringere. Die Handhabung der Methode ist übrigens eine so einfache, dass be-

sondere Vorschriften bezüglich der Säuremenge ganz überflüssig sein dürften, und es wird ein Jeder gewiss die in dem speciellen Falle erforderliche Säuremenge leicht finden. Bezüglich des Säuregrades kann ich zufügen, dass er vielleicht ohne Schaden etwas höher als 0,1—0,15, etwa 0,2—0,3‰, genommen werden kann. Mit einem höheren Säuregrade wächst doch natürlich auch die Menge des zur Ausfällung des Mucins erforderlichen Wassers.

Das wie oben mit Wasser ausgefällte Mucin stellt eine zähe, klebrige Masse dar, welche zu mehrere Fuss langen Fäden ausgezogen werden kann und fast wie Vogelleim an den Gefässen und trockenen Gegenständen überhaupt haftet. Von einem Auswaschen auf dem Filtrum kann also nicht die Rede sein. Behufs des Auswaschens dieses Mucins muss man es in einem Becherglase wiederholt mit neuen Mengen Wasser durchkneten, und man beobachtet dabei, wie die Oberfläche des Mucingerinnsels in dem Maasse, wie die Säure entfernt wird, eine weisse Farbe annimmt und in weisse, aufgequollene Fäserchen und Partikelchen zerfällt. Diese Partikelchen werden mit dem Wasser abgegossen, und beim Durchkneten des Gerinnsels mit neuen Wassermengen wandelt sich allmählich die ganze Masse desselben in weisse, gequollene Flöckchen um, die dann durch Decantation mit Wasser weiter ausgewaschen werden können. Auf diese Weise kann also das urprünglich blassbraungelb gefärbte Mucingerinnsel in eine, anscheinend fast rein weisse flockige Masse verwandelt werden, welche ein vollständiges Auswaschen gestattet. Dieses, fast weisse, flockige Mucin wandelt sich sogleich durch Zusatz von Essigsäure in die ursprüngliche zähe, blassbraungelblich gefärbte Masse um. In Wasser löst es sich mit Hülfe von äusserst wenig Alkali leicht zu einer fadenziehenden, schleimigen, anscheinend ganz typischen Mucinlösung auf.

Als Vorbereitung für die Elementaranalyse wurde dieses ausgewaschene Mucin erst mit Alcohol entwässert, dann mit Aether behandelt und zu einem staubfeinen Pulver zerrieben, welches vollständig mit Alcohol und Aether erschöpft wurde. Das so behandelte Präparat, welches eine fast rein weisse

Farbe hatte, wurde zu der Analyse verwendet. Ich theile hier die Analysen von 7 Präparaten mit, welche 2—5 mal mit Wasser aus der salzsäurehaltigen Lösung gefällt worden war. Die Zahlen für C, H, N und S sind auf aschefreie Substanz berechnet.

| | | C: | H: | N: | S: | Asche: |
|---|---|---|---|---|---|---|
| No. 1. | 2 mal gefällt | 48,81 | 6,82 | 12,32 | — | 0,37 |
| » 2. | 2 » » | 49,01 | 6,75 | 12,38 | — | 0,34 |
| » 3. | 3 » » | 48,76 | 6,87 | 12,29 | — | 0,40 |
| » 4. | 3 » » | 48,82 | 6,76 | 12,34 | 0,836 | 0,35 |
| » 5. | 4 » » | 48,82 | 6,82 | 12,29 | 0,849 | 0,31 |
| » 6. | 5 » » | — | — | 12,32 | — | 0,35 |
| » 7. | 5 » » | — | — | 12,30 | — | 0,31 |
| | Mittel | 48,84 % | 6,80 % | 12,32 % | 0,843 % | 0,35 %. |

Die übereinstimmende Zusammensetzung der verschiedenen analysirten Präparate dürfte wohl eine genügende Garantie für ihre Reinheit und die Brauchbarkeit der neuen Methode liefern, und ich glaube mich also zu der Behauptung berechtigt, dass die Reindarstellung des Submaxillarismucins nach dieser Methode leicht und sicher gelingt.

Wie sämmtliche in der letzten Zeit untersuchten Mucine ist auch das von mir isolirte Submaxillarismucin eine schwefelhaltige Substanz und meine Beobachtungen stimmen also in dieser Hinsicht mit denjenigen von Landwehr, welcher das Submaxillarismucin ebenfalls schwefelhaltig fand, überein. Wenn ältere Forscher keinen Schwefel in dem Mucin fanden, kann ich auch kein zu grosses Gewicht hierauf legen, denn die nicht unbedeutende Löslichkeit des Bariumsulfates in Salzsäure war damals nicht genügend bekannt oder beachtet, und der Schwefelgehalt des Mucins ist so gering, dass er bei der qualitativen Probe bei zu starker Ansäuerung mit Salzsäure leicht übersehen werden kann.

Mit Rücksicht auf die Frage von einem etwaigen Phosphorgehalte des Submaxillarismucins habe ich auch einige Bestimmungen ausgeführt und dabei in der Kali-Salpeterschmelze regelmässig etwas Phosphorsäure nachweisen können. Die Menge davon war indessen ausserordentlich klein. So

erhielt ich das eine Mal aus 1,5473 gr. Mucin nur 0,0027 gr. $P_2O_5$ und das andere Mal in 1,2766 gr. Mucin 0.0024 gr. $P_2O_5$. Die absolute Menge der Gesammtasche war in jenem Falle 0,0059 und in diesem 0,0046 gr. Die gefundene Phosphorsäure kann also sehr wohl von der Asche allein herrühren und man ist jedenfalls nicht zu der Annahme berechtigt, dass das Submaxillarismucin eine phosphorhaltige Substanz sei.

Vergleicht man mit der nun gefundenen, mittleren Zusammensetzung des 2 - 5 mal mit Wasser aus salzsäurehaltiger Lösung gefällten Mucins diejenige des mit Essigsäure gefällten und mehr als eine Woche damit gewaschenen, so findet man, dass die Zusammensetzung des letzteren nur wenig abweicht. Die Zusammensetzung dieses Präparates war nämlich C 49,21, H 6,92, N 12,47 (und Asche 1,06), während die mittlere Zusammensetzung des aus salzsaurer Lösung gefällten Mucins C 48,84, H 6,80, N 12,32 (mit 0,35 % Asche) war. Die Abweichung ist zwar eine unbedeutende, aber sie dürfte doch zeigen, dass die Reindarstellung des Mucins nach der Essigsäuremethode selbst in diesem Falle nicht ganz vollständig gelungen war. Wenn es auch möglich sein dürfte, ein ganz reines Mucin nach der Essigsäuremethode darzustellen, so ist dies doch mit Aufwand von so viel Zeit und Arbeit verknüpft, dass man der Salzsäuremethode unbedingt den Vorzug geben muss.

Vergleicht man weiter die von mir für die Zusammensetzung des Submaxillarismucins gefundenen Zahlen mit denjenigen, welche von Landwehr und Obolensky erhalten worden sind, so ersieht man sogleich, dass die Uebereinstimmung keine gute ist. In dem von Landwehr analysirten Submaxillarismucin war der Kohlenstoffgehalt etwa 1 % und der Stickstoffgehalt etwa 1,3 % höher als in dem meinigen, was leicht dadurch zu erklären ist, dass sein Mucin von etwas Nucleoalbumin verunreinigt gewesen ist. Noch grösser ist die Abweichung, welche die von Obolensky gefundenen Zahlen aufzuweisen haben. Der Stickstoffgehalt weicht zwar nur um 0,5 % ab, aber dagegen hat er etwa 3 % mehr Kohlen-

stoff gefunden. Dieser Mangel an Uebereinstimmung dürfte doch nicht sehr auffallend erscheinen, wenn man sich vergegenwärtigt, dass das von Obolensky analysirte Mucin dermassen unrein war, dass es mehr als 4 % Glaspulver enthielt, welches bei der Filtration mit der Mucinlösung durch das Filtrum gedrungen war.

Wenn also das von mir isolirte Submaxillarismucin bezüglich seiner Zusammensetzung keine gute Uebereinstimmung mit dem von früheren Forschern isolirten Submaxillarismucin aufzuweisen hat, zeigt es eine um so erfreulichere Uebereinstimmung mit einem anderen, in der letzten Zeit analysirten und zwar wie es scheint in vorzüglicher Reinheit isolirten Mucin. Ich gedenke hier des von Loebisch isolirten und analysirten Sehnenmucins.

Als mittlere Zusammensetzung für das Sehnenmucin fand Loebisch[1]) C 48,30, H 6,44, N 11,75, S 0,81. Der Kohlen- und Stickstoffgehalt dieses Mucins ist also nur etwa 0,5 % niedriger als in dem Submaxillarismucin, während der Schwefelgehalt in beiden etwa derselbe ist. Die qualitativen Reactionen des Submaxillaris- und des Sehnenmucins sind zwar in einigen Hinsichten so verschieden, dass von einer Identität der beiden Stoffe nicht die Rede sein kann; da sie aber bezüglich der elementären Zusammensetzung eine so nahe Uebereinstimmung zeigen, dürften sie wohl wenigstens als sehr nahe verwandte Stoffe angesehen werden können.

Nachdem ich nun über die Darstellungsmethode und die Zusammensetzung des Submaxillarismucins gesprochen habe, dürfte ich zu den qualitativen Reactionen dieses Stoffes übergehen können.

Das vollständig ausgewaschene, noch feuchte Mucin stellt eine feinflockige, fast rein weisse Masse dar, welche bei Zusatz von Essigsäure wieder zu einer zähen, klebrigen Masse sich zusammenballt und dabei wieder eine blass

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. X, Heft 1, S. 40 u. folg.

gelbbräunliche Farbe annimmt. Wäscht man das Mucin mit Wasser aus, bis dieses keine Spur von freier Säure enthält, so reagirt das Submaxillarismucin trotzdem noch stark sauer. Legt man es auf blaues Lackmuspapier, so wird dies ziegelroth gefärbt. Wäscht man das Mucin fortwährend beliebig lange mit Wasser aus, so reagirt es dennoch stark sauer.

Dieses Verhalten, welches wohl schwerlich durch die Annahme, dass das Mucin trotz dem sorgfältigen Auswaschen von anhängender Säure verunreinigt sei, erklärt werden kann, könnte vielleicht in zweifacher Weise erklärt werden. Einerseits könnte es um eine chemische Verbindung des Mucins mit einem Theil der zur Darstellung desselben benutzten Säure sich handeln oder es könnte auch das Mucin selbst eine Säure sein.

Zur Entscheidung dieser Frage verfuhr ich in der Weise, dass ich eine grössere Menge des mit Chlorwasserstoffsäure dargestellten, möglichst ausgewaschenen, sauer reagirenden Mucins in Wasser mit Hülfe von einem Ueberschuss von ganz chlorfreiem Natriumcarbonat löste, einen Theil dieser Lösung zur quantitativen Bestimmung des darin enthaltenen Mucins verwendete und den Rest nach Zusatz von noch etwas mehr Natriumcarbonat eintrocknete und vorsichtig einäscherte. Es wurde dabei zuerst sehr vorsichtig verkohlt, die Kohle mit Wasser ausgekocht und dann erst eingeäschert. In den nach den allgemein bekannten Methoden gewonnenen Auszügen der in Wasser löslichen resp. unlöslichen Aschenbestandtheile wurde dann die Menge des Chlors durch Titration bestimmt.

Ich habe 2 solche Bestimmungen ausgeführt. Zu der einen nahm ich 1,69 gr. Mucin (als wasserfrei berechnet) und fand darin 0,0014 gr. $HCl$. Das andere Mal nahm ich zu der Bestimmung nicht weniger als 4,55 gr. Mucin (ebenfalls als wasserfrei berechnet) und fand darin nur 0,0017 gr. $HCl$. In diesem letzten Falle kamen also auf 1 gr. trockenen Mucins etwa 0,00037 gr. $HCl$, und die stark saure Reaction des ausgewaschenen Mucins kann wohl also offenbar nicht

von einer Verunreinigung mit einem Theil der verwendeten Salzsäure herrühren. Bezüglich der Möglichkeit, dass das mit Salzsäure dargestellte Mucin eine sauer reagirende chemische Verbindung mit der Säure darstelle, ist es selbstverständlich etwas schwierig, eine ganz bestimmte Behauptung zu machen, da wir das Moleculargewicht des Mucins nicht kennen. Wollte man aber die Annahme machen, dass es um eine Verbindung von 1 Mol. Mucin mit 1 Mol. Chlorwasserstoffsäure sich handele, so müsste das Moleculargewicht des Submaxillarismucins etwa 25 mal grösser als das von Loebisch für das Sehnenmucin berechnete Moleculargewicht 3936 sein, was doch wohl kaum wahrscheinlich sein kann. Die einfachste Erklärung und die wahrscheinlichste Annahme ist also die, dass das Submaxillarismucin selbst eine Säure sei.

Mit dieser Annahme steht auch die Thatsache in bestem Einklange, dass das Submaxillarismucin mit Alkalien oder alkalischen Erden zu neutral reagirenden Verbindungen sich vereinigt. Wird das Submaxillarismucin auf die obige Weise durch Decantation mit Wasser von jeder Spur der anhaftenden Säure befreit, so kann man es leicht mit Hülfe von ein wenig Alkali in Wasser zu einer neutral oder jedenfalls gar nicht alkalisch, sondern eher äusserst schwach sauer reagirenden Flüssigkeit auflösen. Man muss dabei nur darauf achten, dass nie auf einmal so viel Alkali zugesetzt wird, dass man eine selbst vorübergehend alkalisch reagirende Flüssigkeit erhält. Am besten wird das Mucin in verhältnissmässig wenig Wasser zertheilt und dann von einer sehr verdünnten Kali- oder Natronlauge allmählich unter stetem Umrühren kleine Mengen zugesetzt. Das Mucin quillt dabei stark auf und die schleimige Masse reagirt (mit Lackmuspapier geprüft) fortwährend sauer, bis die zur Bindung der gesammten Mucinmenge erforderliche Menge Alkali zugesetzt worden ist. Dabei ist es natürlich nothwendig, allmählich mit neuen Mengen Wasser zu verdünnen. Auf diese Weise kann man das Mucin ohne alkalische Reaction allmählich gelöst erhalten, und wenn einzelne Klümpchen noch ungelöst

geblieben sind, versuche ich nicht durch Zusatz von etwas mehr Alkali dieselben zu lösen, sondern ich trenne einfach mittels der Centrifuge die Lösung von den ungelösten Partikelchen ab. Versucht man diese Partikelchen oder Flöckchen durch Filtration zu entfernen, so wird nämlich das Filtrum bald von ihnen verstopft und es filtrirt nur eine sehr stoffarme Lösung langsam durch.

Durch Zusatz von Ammon kann auch das Mucin in Wasser gelöst werden und ein Ueberschuss — wenigstens ein kleiner Ueberschuss davon — wirkt nicht auf die Eigenschaften des Mucins verändernd ein.

Es bietet also nicht die geringste Schwierigkeit, aus dem nach der neuen Methode dargestellten (wie auch aus dem mit Essigsäure gefällten) Submaxillarismucin durch vorsichtigen Alkalizusatz eine neutrale, schleimig fadenziehende Mucinlösung zu gewinnen. Selbst das mit Alcoholäther behandelte, über Schwefelsäure getrocknete Mucin kann auf diese Weise eine schleimig fadenziehende Lösung liefern.

Bezüglich der Reactionen einer auf obige Weise dargestellten, neutral reagirenden Mucinlösung will ich Folgendes mittheilen, wobei ich als Beispiel eine Lösung mit 0,228 %, aus salzsaurer Lösung 2 mal gefälltem Mucin wähle.

Beim Sieden gerinnt eine solche neutrale Lösung nicht und bei kurzdauerndem Erhitzen wird sie nicht merkbar verändert. In letzterem Falle wird sie (nach dem Erkalten) fortwährend von überschüssiger Essigsäure in der Weise gefällt, dass fast sämmtliches Mucin um den Glasstab als eine zusammenhängende Masse sich herumwindet; und die spärlichen Fäserchen und kleinen Flöckchen, welche in der Flüssigkeit suspendirt sind, lösen sich bei Zusatz von Ferrocyankalium klar auf, was von ihrer Mucinnatur ein deutliches Zeugniss giebt. Diese Angaben gelten wenigstens für kleinere Mengen Mucinlösung, welche in einer Eprouvette rasch zum Sieden erhitzt werden können. Bei Gegenwart von einem selbst sehr geringfügigen Alkaliüberschuss wird das Mucin dagegen, besonders wenn die Lösung arm an Substanz ist, sogar

durch einmaliges Aufkochen verändert und zersetzt, so dass die Lösung dünnflüssig und von Essigsäure nur feinflockig gefällt wird.

Eine mit NaCl (bis zu 8%) versetzte neutrale Mucinlösung gerinnt nicht beim Sieden und kann sogar mit Essigsäure ein wenig — aber immerhin nur sehr schwach — angesäuert werden, ohne beim Sieden zu gerinnen.

Eine mit möglichst wenig Alkali bereitete Mucinlösung kann auch, wenn man die Fäulniss verhindert, lange Zeit aufbewahrt werden, ohne ihre typische, schleimige Beschaffenheit einzubüssen. Dies lässt sich besonders leicht an den mit Hülfe von Ammon bereiteten Mucinlösungen, welche ohne Schaden längere Zeit erwärmt werden können, demonstriren. Ich habe solche, mit Ammon hergestellte, ziemlich concentrirte Mucinlösungen in Glasröhren eingeschmolzen, darauf etwa 1 Stunde im Wasserbade erwärmt und dann längere Zeit bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Da ich den Inhalt der Röhren untersuchte, fand ich ihn stets unverändert, und da ich vor einiger Zeit eine solche, 2 Jahre aufbewahrte Röhre öffnete, hatte die darin eingeschlossene Mucinlösung ihre fadenziehende, typische Beschaffenheit noch nicht eingebüsst. Von Essigsäure wurde sie wie vorher typisch gefällt.

Eine ganz neutrale, salzfreie Mucinlösung wird erst von einem höchst bedeutenden Ueberschuss von Alcohol gefällt. Nach dem Abgiessen des Alcohols ist der Niederschlag in Wasser löslich und diese Lösung hat eine typische Beschaffenheit. Eine neutrale, salzfreie Mucinlösung, welche mit einer grösseren Menge Alcohol versetzt worden ist, ohne eine Fällung zu geben, wird sogleich durch Zusatz von ein wenig NaCl reichlich gefällt, und das salzfreie Mucin verhält sich also zu Alcohol wie die salzfreien Lösungen von gewissen Eiweissstoffen und Kohlehydraten. Der durch Alcohol bei Gegenwart von NaCl erzeugte Mucinniederschlag wird doch sehr bald unlöslich oder fast unlöslich in Wasser. Eine salzfreie Mucinlösung, welche eine Spur von freiem Alkali enthält, wird von Alcohol überhaupt gar nicht gefällt.

Von Mineralsäuren, in sehr kleiner Menge und vorsichtig zugesetzt, wird das Mucin gefällt; aber es löst sich äusserst leicht in einem kleinen Ueberschuss der Säure wieder auf. Von besonderer Wichtigkeit ist, wie oben hervorgehoben wurde, die Löslichkeit des Mucins in einem kleinen Ueberschuss von Salzsäure und die Fällbarkeit des Mucins mit unveränderten Eigenschaften durch die genügende Verdünnung dieser Lösung mit Wasser.

Salpetersäure, in der bei der Heller'schen Eiweissprobe im Harn üblichen Weise zugesetzt, giebt in der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten eine weissliche Trübung, welche beim Umschütteln wieder verschwindet. Die salpetersäurehaltige Mucinlösung giebt mit Phosphormolybdänsäure einen voluminösen Niederschlag.

Mit Kupfersulfat in sehr kleiner Menge giebt die neutrale Mucinlösung eine so reichliche und stark schleimig gequollene Fällung, dass das Ganze fast zu einer Gallerte gesteht. Von einem grösseren Ueberschuss an Kupfersulfat kann der Niederschlag wieder ganz oder fast ganz gelöst werden, und wenn man auf einmal viel Kupfersulfatlösung zusetzt, kann die Ausfällung ganz ausbleiben. Der mit einer passenden Menge Kupfersulfatlösung erzeugte Niederschlag löst sich bei Alkalizusatz zu einer rothvioletten Flüssigkeit auf, in welcher beim Sieden keine mit Ausscheidung von Kupferoxydul verlaufende Reduction stattfindet.

Eisenchloridlösung in kleiner Menge giebt mit der Mucinlösung eine schleimig gequollene Masse. Bei allmählichem Zusatz von überschüssiger Eisenchloridlösung kann dieser Niederschlag nicht oder nur zum kleineren Theil wieder aufgelöst werden. Setzt man dagegen auf einmal einen grösseren Ueberschuss von Eisenchloridlösung zu, so löst der zuerst entstandene Niederschlag sich leicht auf oder der schleimig gequollene Niederschlag kommt überhaupt nicht zum Vorschein. Der mit Eisenchlorid erzeugte Nlederschlag wird von überschüssigem Alkali nicht gelöst.

Von Quecksilberjodidjodkalium wird die neutrale Mucinlösung nicht gefällt. Quecksilberchlorid dagegen ver-

wandelt die Mucinlösung in eine schleimige, gequollene Masse, welche in einem Ueberschuss der Reagenslösung in Klumpen oder Flöckchen zerfällt. Wird die Reagenslösung auf einmal in grösserer Menge zugesetzt, so wird das Resultat dasselbe.

Bleizucker- oder Bleiessiglösung geben reichliche, schleimig gequollene Niederschläge, welche in einem Ueberschuss des Reagenses, wenigstens wenn reichliche Mengen davon auf einmal zugesetzt werden, sich wieder lösen.

Kaliumbichromatlösung verwandelt die Mucinlösung in eine gequollene schleimige Masse.

Kalialaunlösung verwandelt die neutrale Mucinlösung in ein schleimiges Coagel, welches von überschüssiger Alaunlösung wieder zu einer dünnflüssigen, klaren Flüssigkeit gelöst wird.

Von Magnesiumsulfat oder Kochsalz in Substanz bis zur Sättigung der Lösung eingetragen, wird die neutrale Mucinlösung gefällt.

Millon's Reagens giebt eine deutliche Reaction; doch wird die Farbe mehr gelblich roth und nicht so schön roth wie bei den Eiweissstoffen.

Adamkiewicz's Reaction ist weniger stark und nicht von einer so schön violetten Farbe wie bei den Eiweissstoffen.

Die Xantoproteinsäurereaction ist deutlich, wenn auch nicht sehr stark.

Beim Sieden mit verdünnten Mineralsäuren giebt das reine Submaxillarismucin wie die anderen Mucine eine reducirende Substanz.

Für das Studium der sauren Mucinlösungen kann man theils die schwach salzsäurehaltige (etwa 0,1 % HCl) und theils die kochsalzhaltige, mit Essigsäure angesäuerte Lösung verwenden.

Die Lösung des Mucins in sehr verdünnter Salzsäure giebt mit Ferrocyankalium keine Trübung oder Fällung im gewöhnlichen Sinne. Das Gemenge bleibt klar und durch-

sichtig. Wenn die Mucinlösung nicht zu verdünnt ist, bemerkt man doch deutlich, wie sie trotz der Durchsichtigkeit sehr dickflüssig und mehr schleimig wird, und das Mucin wird also doch wohl gewissermassen gefällt. Von Quecksilberchlorid oder Quecksilberjodidjodkalium wird die salzsäurehaltige Mucinlösung erst in einen dickschleimigen Klumpen verwandelt, welcher später in Flöckchen zerfällt.

Eine mit NaCl (etwa 5—10%) versetzte Mucinlösung kann bekanntlich mit Essigsäure ziemlich stark angesäuert werden, ohne einen Niederschlag zu geben.

Eine solche essigsaure Mucinlösung wird von Ferrocyankalium gar nicht verändert. Sie giebt damit keine Spur einer Opalescenz oder einer Fällung irgendwelcher Art. Von Gerbsäure in kleiner Menge wird sie dagegen schleimig dickflüssig und von überschüssiger Gerbsäure wird sie grobflockig gefällt.

Die nun angeführten, qualitativen Reactionen, wie auch die elementäre Zusammensetzung des Submaxillarismucins dürften wohl zur Genüge zeigen, dass dieses Mucin mit keinem der bisher in reinem Zustande isolirten und genauer studirten Mucine identisch sein kann. Bezüglich der elementären Zusammensetzung steht es unzweifelhaft dem von Loebisch isolirten und studirten Sehnenmucin am nächsten. Von diesem aber unterscheidet sich das Submaxillarismucin vor Allem in folgenden Hinsichten: Die Lösung des typischen, nicht veränderten Submaxillarismucins wird nicht wie die Lösung des Sehnenmucins von überschüssiger Essigsäure flockig gefällt. Das Submaxillarismucin hat vielmehr eine hervorragende Tendenz, zu grösseren, zähen, faserigen Massen sich zusammenzuballen. Das Submaxillarmucin wird ferner von Salzsäure, selbst in einem kleinen Ueberschuss, leicht gelöst, während das Sehnenmucin davon nicht gelöst wird. Das Submaxillarismucin wird von verdünnten Alkalien oder halbgesättigtem Kalkwasser sogar bei Zimmertemperatur äusserst leicht angegriffen und zerspalten, während das Sehnenmucin gegen die Einwirkung von Kalkwasser eine sehr grosse Resistenz zeigt. Von den Mucinen aus der Weinbergschnecke, wie auch von

dem sogenannten Mucin der Galle unterscheidet sich das Submaxillarismucin — vor Allem bezüglich der elementären Zusammensetzung — noch mehr.

Ueber die Zersetzungsproducte des Submaxillarismucins habe ich eine ziemlich grosse Menge von Beobachtungen gesammelt, und vor Allem habe ich die bei Einwirkung von verdünnten Säuren, Alkalien oder von Magensaft entstehenden Spaltungsproducte, wie auch diejenigen Stoffe, welche beim Sieden des Mucins mit verdünnten Säuren oder beim Erhitzen desselben mit Wasser im Papin'schen Topfe entstehen, zum Gegenstand meiner Untersuchungen gemacht. Ueber die hierbei gewonnenen Resultate werde ich in einer anderen Abhandlung berichten.

# Ueber die Schleimsubstanz der Galle.

Von

**Lincoln Paijkull.**

(Aus dem Laboratorium für physiologische Chemie in Upsala.)

(Der Redaction zugegangen am 29. September 1887.)

Während die übrigen Bestandtheile der Galle wiederholt zum Gegenstand eingehender Untersuchungen gemacht worden sind, findet man nur spärliche und unbefriedigende Angaben über den Schleim derselben.

Berzelius[1]) erinnert in seinem Lehrbuche daran, dass Fourcroy aus der Galle mit Alcohol eine Substanz fällte, welche von ihm als Eiweiss angesehen wurde, während andererseits auch Powell gefunden hatte, dass das Eiweiss durch Vermischen mit Galle seine Eigenschaft, beim Sieden zu gerinnen, einbüssen kann. Berzelius erinnert weiter daran, dass nach Gmelin in der Galle theils Eiweiss und theils wahrer Schleim vorkommen soll, während Frommherz und Gugert, welche der Gmelin'schen Ansicht beitraten, seine Angaben insofern erweiterten, als sie das Eiweiss der Galle als mit dem Käsestoff identisch erklärten.

Berzelius selbst hatte gefunden, dass, wenn die Galle zur Trockne verdunstet und der Rückstand mit Alcohol erschöpft wird, der s. g. Gallenschleim als ein in Wasser unlöslicher Rückstand erhalten wird. Er fand weiter, dass der Gallenschleim in Säuren unlöslich ist, und er sprach die Ansicht aus, dass der fragliche Gallenbestandtheil nicht aus Eiweiss, sondern aus «Schleim» besteht.

---

1) Lehrbuch der Chemie, Bd. IV, Abtheilung I, S. 172.

Nach Simon[1]) wird aus der Galle mit Alcohol eine von ihm Gallenschleim genannte Substanz gefällt. Durch das Ausfällen verliert diese Substanz ihre schleimige Beschaffenheit, gewinnt aber dieselbe durch Auswaschen des Alcohols wieder.

Die älteren Angaben über den Gallenschleim haben also unsere Kenntniss von diesem Stoffe nur wenig gefördert, und erst durch die neueren Untersuchungen von Landwehr hat die Frage von der Natur dieses Stoffes ein grösseres Interesse gewonnen.

In seiner ersten Mittheilung betrachtet Landwehr[2]) noch das Gallenmucin als wahres Mucin, und den Umstand, dass der von ihm isolirte Stoff beim Sieden mit verdünnten Säuren keine reducirende Substanz giebt, erklärte er durch die Annahme, dass das Gallenmucin von demjenigen Kohlehydrate, welches nach seiner damaligen Ansicht andere Mucine verunreinigen sollte, frei sei. In einem späteren Aufsatze hat Landwehr[3]) diese Ansicht höchst wesentlich modificirt, indem er behauptet, dass das Gallenmucin kein chemisches Individuum, sondern nur ein Gemenge von Globulin mit Glykocholsäure sein soll. Während er früher das aus der Galle mit Essigsäure gefällte und weiter gereinigte Mucin — für welches er die Zusammensetzung C 53,09, H 7,6, N 13,8, S 1,1 und O 24,41 % gefunden hatte — als reines Gallenmucin bezeichnete, muss also nach seiner neuen Ansicht diese Substanz ein sehr unreines Gemenge gewesen sein.

Bei dieser Sachlage, und da die gelungene Reindarstellung des Gallenmucins also sehr unwahrscheinlich ist, war es von einem nicht zu unterschätzenden Interesse, über die Natur dieser Substanz wenn möglich nähere Aufschlüsse zu gewinnen. Zu dem Ende habe ich auf Anregung von Prof. Hammarsten unter seiner Leitung in dem hiesigen Institute für physio-

---

1) Physiologische und pathologische Anthropochemie. Berlin 1842, S. 307.

2) Diese Zeitschrift, Bd. V.

3) Diese Zeitschrift, Bd. VIII.

logische Chemie einige Untersuchungen über diesen Gegenstand ausgeführt.

Nach Landwehr soll das Gallenmucin ein Gemenge von Globulin mit Glykocholsäure sein, und dementsprechend sagt er auch, dass man bei der Analyse des Gallenmucins immer eine Abweichung von der Zusammensetzung der Mucine derart erhalten muss, dass der Kohlen- und Wasserstoffgehalt höher, der Stickstoff- und Sauerstoffgehalt dagegen niedriger als in den Globulinen ausfällt. Hiermit stimmt nun in der That auch die von Landwehr für das Rindsgallenmucin gefundene Zusammensetzung, nach welcher dieser Stoff etwa 13,8 % Stickstoff enthält, während der Stickstoffgehalt des Paraglobulins bekanntlich 15,85 beträgt. Ebenso fand Landwehr in dem Gallenmucin 53,09 % C und 7,6 % H, während der Gehalt des Paraglobulins an diesen Elementen bezw. 52,71 und 7,01 ist. Wollte man nun annehmen, dass das Gallenmucin ein Gemenge von Globulin mit Glykocholsäure sei, so müsste dieses Globulin, da der Stickstoffgehalt der Glykocholsäure 2,5 % beträgt, eine Beimengung von etwa 15,4 % Glykocholsäure enthalten haben, damit ein Stickstoffgehalt von 13,8 % in dem sogenannten Gallenmucin gefunden werden würde. Es ist nun doch wohl kaum denkbar, dass das von Landwehr früher als rein bezeichnete Gallenmucin dermassen mit Gallensäure verunreinigt gewesen sei; und gegen eine solche Möglichkeit spricht auch der von Landwehr gefundene Kohlenstoffgehalt des Gallenmucins. Die oben für einen Stickstoffgehalt von 13,8 % postulirte Verunreinigung des Globulins mit Glykocholsäuee hätte nämlich den Kohlenstoffgehalt des Gallenmucins auf 55,01 % heraufbringen müssen, während Landwehr in diesem thatsächlich doch nur 53,09 % Kohlenstoff gefunden hat.

Schon durch diese Erwägungen ist es höchst unwahrscheinlich geworden, dass das Gallenmucin, wie Landwehr annimmt, ein Gemenge von Globulin mit Gallensäuren darstellen kann. Diese Unwahrscheinlichkeit wird noch grösser, wenn man der physikalischen Beschaffenheit der Galle sich erinnert. Landwehr sagt freilich, dass man leicht aus beiden

Componenten (Globulin und glykocholsaurem Natron) eine Substanz darstellen kann, die bezüglich der Zusammensetzung, der physikalischen Eigenschaften und Reactionen mit dem sogenannten Gallenmucin vollständig übereinstimmt; aber es ist doch schon a priori zu erwarten, dass ein solches Gemenge nicht die physikalische Beschaffenheit des Gallenmucins besitzen werde. Die augenfälligste physikalische Eigenschaft des Gallenmucins wie der Mucinsubstanzen überhaupt ist nun bekanntlich die zähe, fadenziehende, schleimige Beschaffenheit ihrer Lösungen; und wenn das Gallenmucin nur ein Gemenge von Globulin und Gallensäuren wäre, würde es natürlich gelingen, durch Vermischen von Globulinlösungen mit schleimfreier Galle eine Flüssigkeit von der physikalischen Beschaffenheit der schleimhaltigen Galle darzustellen.

Dies gelingt nun aber nicht. Wenigstens ist es mir, trotz wiederholter Versuche, in keinem einzigen Falle gelungen, aus dem typischen Serumglobulin durch Beimengung von schleimfreier Galle in wechselnden Mengenverhältnissen eine schleimige Lösung zu gewinnen. Diese Versuche wurden mit gereinigtem, 2 mal gefälltem Paraglobulin ausgeführt, und zwar theils in der Weise, dass bei einem unveränderlichen Gehalte an Paraglobulin (0,3 %) in ganz neutraler Lösung der Gehalt an gallensauren Salzen von 5—7—12 % wechselte, und theils so, dass bei einem constanten Gehalte an gallensauren Salzen (7 %) der Gehalt an Globulin von 0,3—1 % schwankte. Die gallensauren Salze waren nur durch vollständiges Entfernen des sogenannten Mucins mit Alcohol gewonnen und waren also von Farbstoffen und anderen in Alcohol löslichen Gallenbestandtheilen verunreinigt.

Ich habe, wie oben gesagt, in keinem einzigen Versuche eine fadenziehende oder schleimige Lösung auf die obige Weise darstellen können, und da man vielleicht gegen meine Versuchsanordnung den — allerdings gar nicht begründeten — Einwand machen könnte, dass das Globulin in Folge der bei dessen Darstellung unvermeidlichen Proceduren eine Veränderung durchgemacht hätte, habe ich die Versuche auch mit Gemengen von gallensauren Salzen und natürlichem Blutserum

(mit derselben Relation zwischen Globulin und Gallensäuren wie oben) ausgeführt. Das Ergebniss war dasselbe. Eine Lösung von der physikalischen Beschaffenheit der schleimfreien Galle war nicht zu erhalten.

Da sowohl die von Landwehr gefundene elementäre Zusammensetzung des von ihm analysirten Gallenmucins, wie auch die eben mitgetheilten Versuche mit Paraglobulin und schleimfreier Galle der Annahme, dass das Gallenmucin ein Gemenge von Globulin mit Gallensäure sei, entschieden widersprachen, und da es andererseits nach den Untersuchungen von Landwehr wohl kaum zu bezweifeln ist, dass der Gallenschleim kein echtes Mucin sein kann, musste es mir demnächst obliegen, die fragliche Substanz behufs einer genaueren Untersuchung wenn möglich in reinem Zustande darzustellen.

Dieser Aufgabe stehen nicht unbedeutende Schwierigkeiten im Wege: Ist der Gallenmucin ein eiweisshaltiger Stoff, so müssen bei der Ausfällung desselben mit einer Säure die Gallensäuren gleichzeitig mit niedergerissen werden, und in Anbetracht der Hartnäckigkeit, mit welcher diese Säuren von dem Eiweiss zurückgehalten werden, ist es zu erwarten, dass der Gallenschleim trotz wiederholtem Ausfällen und Wiederauflösen noch von Gallensäuren verunreinigt werden muss. Dies trifft nun in der That auch zu; und trotzdem, dass durch wiederholtes Auflösen und Ausfällen der grösste Theil der Gallensäuren entfernt werden kann, können sie doch erst durch eine sehr intensive Alcoholbehandlung vollständig entfernt werden. Behufs der Reindarstellung des Gallenmucins für die Elementaranalyse könnte also die von Landwehr befolgte Methode wohl brauchbar sein, während sie — in Folge der coagulirenden Einwirkung des Alcohols — für die Darstellung eines löslichen und typischen Gallenmucins — wie Landwehr gezeigt hat — unbrauchbar sein muss.

Nachdem ich zuerst das Verhalten der filtrirten, schleimhaltigen Galle einerseits und der schleimfreien andererseits geprüft hatte, ohne hierdurch irgend welche brauchbare Aufschlüsse über die Natur des Gallenschleimes gewonnen zu haben, und nachdem ich weiter gefunden hatte, dass durch

wiederholtes Ausfällen des Gallenschleimes mit Essigsäure und Wiederauflösen des Niederschlages in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali der fragliche Stoff in dem Maasse, wie die Gallensäuren vollständiger entfernt worden sind, weniger schwerlöslich in überschüssiger Essigsäure wird, fand ich es nothwendig, nach einer Methode mich umzusehen, welche eine mehr directe Entfernung der Gallensäuren ohne Ausfällung der Schleimsubstanz mit einer Säure gestattete.

Als eine solche Methode könnte die Dialyse geeignet erscheinen. Die gallensauren Salze diffundiren ziemlich leicht, während die Schleimsubstanz als diffusionsunfähig angesehen werden dürfte. Durch mehrtägige Dialyse der filtrirten Galle in Pergamentpapierschläuchen gegen fliessendes Wasser habe ich es auch so weit bringen können, dass die Gallensäuren vollständig oder bis auf Spuren entfernt wurden. Der Inhalt der Schläuche stellte nun eine blassgelbliche, neutral reagirende, opalisirende und fadenziehende Flüssigkeit dar, und es war also nach dieser Methode leicht zu zeigen, dass die fadenziehende Beschaffenheit der Galle von einer in ihr vorkommenden mucinähnlichen Substanz und nicht, wie Landwehr annimmt, von einem Gemenge von Gallensäuren mit einer Proteïnsubstanz (Globulin) herrührt. Die Eigenschaften des auf diese Weise gewonnenen, löslichen Gallenmucins stimmen in allen Beziehungen mit denjenigen des nach der unten anzugebenden Methode dargestellten Gallenschleimes überein, und um Wiederholungen zu vermeiden, werde ich darum erst später auf die qualitativen Reactionen dieser schleimigen Substanz eingehen.

Die nun kurz besprochene Methode zur Isolirung des Gallenschleimes leidet doch an der Unannehmlichkeit, dass einerseits während der anhaltenden Dialyse eine Zersetzung der Galle leicht stattfindet, und andererseits die Gallenfarbstoffe nicht ganz vollständig entfernt werden konnten. Aus diesem Grunde habe ich zur Reindarstellung der Schleimsubstanz der Galle auch einen anderen Weg einschlagen müssen.

Die Schleimsubstanz der Galle wird von Alcohol gefällt; als Fällungsmittel soll aber nach Landwehr Alcohol dennoch

nicht zu empfehlen sein, weil der Schleimstoff selbst nach kurzdauernder Einwirkung des Alcohols in Wasser unlöslich wird. Diese Angabe ist natürlich ganz richtig; aber hier wie bei der Ausfällung von Eiweissstoffen mit Alcohol sind zwei Umstände von besonderer Wichtigkeit. Der eine ist die Zeit, während welcher der Alcohol einwirkt, und der zweite ist die Stärke des zur Fällung benutzten Alcohols. In dem Maasse, wie die Zeit der Alcoholeinwirkung kürzer ist, wird natürlich die Einwirkung desselben schwächer, und durch kräftiges Centrifugiren unmittelbar nach dem Alcoholzusatz kann der Alcohol so rasch entfernt werden, dass der Niederschlag noch in Wasser löslich ist. Es ist weiter, wie dies zuerst von Westphalen[1]) und dann von Hammarsten[2]) ausführlicher gezeigt worden ist, bekannt, dass für die Coagulation der Proteïnsubstanzen mittels Alcohol die Menge des gleichzeitig anwesenden Wassers dermassen von Belang ist, dass, wenigstens innerhalb gewisser Grenzen, die Eiweisskörper weniger rasch von starkem wie von schwachem Weingeist unlöslich gemacht werden. So hat beispielsweise Hammarsten bei seinen Untersuchungen über Paralbumin und Metalbumin gezeigt, dass der in einer Eiweisslösung mit 2—3 Vol. Alcohol (von 90 Vol.-%) erzeugte Niederschlag nach einer gegebenen Zeit weit mehr schwerlöslich als der in derselben Flüssigkeit mit 10 Vol. Alcohol erzeugte Niederschlag war. Auf diese beiden Verhältnisse, eine möglichst kurzdauernde Alcoholeinwirkung und die Verwendung eines starken Alcohols, basirt sich die folgende Methode zur Darstellung eines löslichen Gallenmucins.

Die Galle, welche erst immer filtrirt worden war, wurde mit 5 Vol. absolutem Alcohol gefällt und unmittelbar darauf die Mischung auf die Centrifuge gebracht. Nach 10 Minuten hatte der Niederschlag am Boden als eine so feste Masse sich abgesetzt, dass die obenstehende Flüssigkeit vollständig abgegossen werden konnte. Der Bodensatz, welcher in jedem

---

1) Beiträge zur Lehre von der Probepunction. Archiv f. Gynäkologie, Bd. 8.

2) Upsala Läkareförenings Förhandlingar, Bd. 16, und diese Zeitschrift, Bd. 6.

Behälter einen festen Klumpen darstellte, wurde herausgenommen, mit Fliesspapier von der anhängenden Flüssigkeit befreit und dann in Wasser zertheilt. Er löste sich hierbei rasch zu einer etwas opalisirenden, graulich gelben, schleimig fadenziehenden Flüssigkeit auf. Wurde statt absoluten Alcohols nur Alcohol von 90 % verwendet, so war der Niederschlag schwerlöslicher und die Flüssigkeit weniger fadenziehend. Es ist selbstverständlich, dass man auch mit einem schwächeren Alcohol zum Ziele kommen kann; in diesem Falle muss doch eine entsprechend grössere Menge davon zugesetzt werden, und die grösseren Flüssigkeitsvolumina erschweren sehr die folgenden Operationen. Aus diesem Grunde arbeitete ich nur mit absolutem Alcohol.

Die Lösung des mit Alcohol erzeugten Niederschlages in Wasser war nie frei von gallensauren Salzen. Sie wurde darum zum zweiten Male mit Alcohol gefällt, der Niederschlag wieder in Wasser gelöst und, um eine ganz vollständige Entfernung der Gallenbestandtheile zu bewirken, diese Lösung noch einmal mit Alcohol wie oben gefällt. Die auf diese Weise erhaltene Lösung war, sogar nach dreimaligem Ausfällen der Schleimsubstanz mit Alcohol, noch schleimig fadenziehend.

Die Eigenschaften des löslichen Gallenmucins — wobei ich als Beispiel eine Lösung mit 0,23 % Substanz wähle — waren folgende.

Die Lösung, welche neutral reagirte, gerann beim Erhitzen zum Sieden nicht; sie wurde dabei nur undurchsichtig. Nach Zusatz von einer Spur Essigsäure, welche die Lösung bei Zimmertemperatur nicht trübte, gerann sie ganz wie eine Lösung von Eiweiss.

Von Essigsäure wurde die Lösung bei Zimmertemperatur gefällt und der Niederschlag löst sich, wenn auch verhältnissmässig weniger leicht, in einem Ueberschuss der Säure auf. Diese essigsaure Lösung wird von Ferrocyankalium, Quecksilberjodidjodkalium, Quecksilberchlorid, wie auch von Gerbsäure reichlich gefällt.

Chlorwasserstoffsäure, in sehr kleiner Menge, giebt einen flockigen Niederschlag, welcher in einem sehr kleinen Ueberschuss der Säure leicht sich wieder löst. Die saure Lösung wird von Ferrocyankalium, Quecksilberjodidjodkalium und Quecksilberchlorid flockig gefällt.

Von Salpetersäure in Ueberschuss wird die Lösung wie eine gewöhnliche Eiweisslösung gefällt. Beim Erwärmen trat eine starke Xanthoproteïnsäurereactiou auf.

Kupfersulfat gab einen reichlichen Niederschlag; Zusatz von überschüssiger Natronlauge gab eine rothviolette Lösung, welche beim Sieden nicht reducirt wurde.

Eisenchlorid, Quecksilberjodidjodkalium, Quecksilberchlorid, Bleizucker, Bleiessig und Kalialaun erzeugen in der neutralen Lösung reichliche Niederschläge.

Von Kochsalz oder Magnesiumsulfat in Substanz bis zur Sättigung eingetragen, wird die Lösung reichlich gefällt.

Millon's Reagens gab eine typische Reaction und dasselbe gilt auch von dem Reagens von Adamkiewicz.

Als besonders wichtige und interessante Reactionen muss ich noch folgende hervorheben:

Eine Lösung der Gallenschleimsubstanz in Salzsäure von 0,3 % kann längere Zeit bei etwa 40° C. digerirt werden, ohne einen Niederschlag zu geben; wird sie dagegen mit Pepsin versetzt und dann digerirt, so scheidet sich wie in den Nucleoalbuminlösungen nach einiger Zeit eine flockige Fällung ab.

Die Gallenschleimsubstanz kann stundenlang mit verdünnter Mineralsäure gekocht werden, ohne eine Kupferoxydhydrat in alkalischer Lösung reducirende Substanz zu geben, und dieses, von Landwehr beobachtete, Verhalten unterscheidet also die Schleimsubstanz der Galle von den echten Mucinen.

Wie die nun geschilderte Lösung verhielt sich auch, wie oben gesagt wurde, in allen Beziehungen eine durch anhaltende Dialyse aus der Galle direct gewonnene Lösung der schleimigen Substanz. Die beiden Methoden controliren also

einander und liefern eine gegenseitige Garantie für ihre Brauchbarkeit.

Die Schleimsubstanz der Blasengalle stammt natürlich, wenigstens zum allergrössten Theil, von der Schleimhaut der Blase her, und es war also zu erwarten, dass auch aus dieser Haut eine Substanz von den obengenannten Eigenschaften gewonnen werden könnte. Dies ist nun in der That auch der Fall; und die Uebereinstimmung, welche in allen Hinsichten zwischen dieser Substanz und der aus der Galle direct dargestellten besteht, dürfte einen weiteren Beweis für die Brauchbarkeit der obengenannten Darstellungsmethoden des löslichen Gallenschleimes abgeben.

Zur Darstellung der Schleimsubstanz der Blasenschleimhaut verfuhr ich auf folgende Weise: Die Schleimhaut wurde als Ganzes abpräparirt, durch Waschen mit Wasser möglichst von anhängender Galle befreit und dann derart in Wasser aufgehängt, dass dieses nur mit der ganz unbeschädigten inneren Oberfläche in Berührung kam. Nach 2 Tagen wurde das Extract filtrirt und es stellte nun eine schleimige, fadenziehende, schwach gelblich gefärbte Flüssigkeit dar.

Diese Flüssigkeit gab mit Essigsäure eine Fällung, welche in überschüssiger Essigsäure, wenn auch nicht leicht, sich wieder löste. War die Schleimhaut nicht vorher genügend sorgfältig von anhängender Galle gereinigt, so wurde von der Essigsäure die Gallensäuren gleichzeitig mit niedergerissen, und in diesem Falle war der Niederschlag, wie die aus der Galle direct dargestellte von Gallensäuren noch verunreinigte Substanz, in überschüssiger Essigsäure nicht oder nur unvollkommen und sehr schwierig löslich. Es zeigt dies wieder, dass die Schleimsubstanz der Galle an und für sich nicht wie die Mucine in überschüssiger Essigsäure unlöslich ist, sondern eine solche Unlöslichkeit nur der Beimengung von Gallensäuren zu verdanken hat.

Die aus der Schleimhaut mit Wasser gelöste Substanz konnte mit Alcohol ausgefällt werden und verhielt sich dann genau wie die Schleimsubstanz der Galle. Durch wiederholtes

Ausfällen mit Essigsäure und Auflösen in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali wurde sie nicht verändert. Sie verhielt sich nach einer solchen Behandlung fortwährend in allen Hinsichten wie die aus der Galle direct isolirte Substanz, und es kann wohl also über die Identität dieser Substanzen kein Zweifel bestehen.

Nachdem ich also die qualitativen Reactionen des s. g. Gallenschleimes studirt hatte, blieb es mir noch übrig, die elementäre Zusammensetzung dieses Stoffes festzustellen, und zwar handelte es sich hierbei darum, einerseits die aus der Schleimhaut und andererseits die aus der Galle direct isolirte Substanz zu analysiren.

Die Schleimsubstanz der Schleimhaut wurde auf folgende Weise für die Analyse rein dargestellt: Das Wasserextract wurde mit Essigsäure gefällt, der mit Wasser durch Decantation gewaschene Niederschlag in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali bis zu neutraler Reaction gelöst, die Lösung von Neuem mit Essigsäure gefällt, der Niederschlag wieder in Wasser mit Alkali zu neutraler Reaction gelöst und diese ziemlich concentrirte Lösung mit viel Alcohol unter Zusatz von ein wenig Essigsäure gefällt. Der Niederschlag wurde dann wochenlang mit neuen Mengen Alcohol bei etwa 50° C. digerirt, bis der ganz farblose Alcohol keine Spur von Gallensäuren enthielt. Nach weiterer Behandlung mit Aether wurde über Schwefelsäure und dann bei 110° C. getrocknet. Das fertige Präparat stellte ein gelblichgraues Pulver dar.

Auf dieselbe Weise wurde aus der filtrirten Galle die Schleimsubstanz derselben durch 3maliges Fällen dargestellt. Die Alcoholbehandlung musste doch hier sogar monatelang fortgesetzt werden, und dennoch hatte das fertige Präparat — trotzdem dass der Alcohol farblos blieb — eine etwas grünlichgraue Farbe, welche eine Verunreinigung mit Gallenfarbstoff anzudeuten schien.

Die von mir analysirten Präparate waren 3. Das eine stammte von der Schleimhaut und die beiden anderen von der Galle selbst her. Von diesen letzteren war das eine

ein älteres, welches Prof. Hammarsten zu meiner Verfügung gestellt hatte. Dieses Präparat war durch wiederholtes Ausfällen der Schleimsubstanz mit Essigsäure (3 mal), Wiederauflösen mit möglichst wenig Alkali und andauerndes Extrahiren des zuletzt mit Essigsäure gefällten, mit Wasser ausgewaschenen Präparates mit Alcohol dargestellt worden. Dieses Präparat hatte ebenfalls eine etwas grünliche Färbung. Ich theile hier die nach bekannten Methoden erhaltenen Zahlen mit und bemerke nur, dass die Stickstoffbestimmungen nach der Kjeldahl'schen Methode ausgeführt worden sind. Als No. 1 bezeichne ich das von Prof. Hammarsten mir überlieferte, mit No. 2 das von mir aus der Galle und als No. 3 das von mir aus der Schleimhaut dargestellte Präparat. Sämmtliche Zahlen für C, H, N und S beziehen sich auf die bei 110° C. getrocknete, als aschefrei berechnete Substanz.

| | C: | | H: | | N: | | S: |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| No. 1. | 52,03<br>51,81 | 51,92 % | 6,67<br>6,87 | 6,77 % | 16,08<br>16,12 | 16,10 % | 1,58 %. |
| No. 2. | 51,67 % | | 6,88 % | | 16,10<br>16,07 | 16,09 % | 1,74 %. |
| No. 3. | 50,89<br>50,93 | 50,91 % | 6,70<br>6,76 | 6,73 % | 16,18<br>16,25 | 16,22 % | 1,64 %. |

Vergleicht man diese Zahlen mit denjenigen, welche von Landwehr für das Mucin der Galle gefunden worden sind, so findet man sogleich einen recht bedeutenden Unterschied. Den Kohlenstoffgehalt fand Landwehr um etwa 2 % höher und den Stickstoffgehalt um etwa 2,2 % niedriger. Der Grund hierzu muss wohl darin gesucht werden, dass seine Präparate, wie er in der späteren Abhandlung angiebt, von Gallensäuren ziemlich stark verunreinigt gewesen sind. Die Gallensäuren können in der That auch nur ausserordentlich schwierig mit Alcohol entfernt werden, und es war hierzu in meinen Versuchen eine monatelange Einwirkung erforderlich. Noch schwieriger zu entfernen sind doch die Gallenfarbstoffe, und nach dem Aussehen zu urtheilen, waren auch die zwei aus der Galle dargestellten Präparate noch von einem grünen Farbstoffe verunreinigt. Unter der Voraussetzung, dass diese Verunreinigung Biliverdin wäre, würde hierdurch der Kohlen-

stoffgehalt etwas erhöht und der Stickstoffgehalt ein wenig erniedrigt werden. In der That wurde auch in meinen Präparaten aus der Galle der Kohlenstoffgehalt um etwa 0,8 % niedriger als in dem aus der Schleimhaut dargestellten Präparate gefunden. Es war also wahrscheinlich, dass der zwar nicht sehr bedeutende Mangel an Uebereinstimmung, welche zwischen meinen Analysen bestand, von der Verunreinigung meiner Gallenschleimpräparate mit etwas Gallenfarbstoff herrühren könnte, und aus dem Grunde unterwarf ich den Rest meiner Präparate 1 und 2 einer neuen Alcoholbehandlung. Da ich die Beobachtung gemacht zu haben glaubte, dass der Gallenfarbstoff leichter von einem schwächeren als von einem stärkeren Alcohol aus dem Schleime ausgezogen wird, zog ich meine Präparate diesmal mit Alcohol von nur 50 % aus. Dieses scwächere Alcohol löste nun in der That eine merkbare Menge Farbstoff aus und färbte sich auch, während starker Alcohol ohne Einwirkung war. Die Alcoholbehandlung wurde 3 Wochen fortgesetzt und schien nun eine erschöpfende gewesen zu sein. Die neue Analyse des Präparates No. 1 verunglückte durch einen Unfall; die Analyse des Präparates No. 2 gab aber 50,87 % C und 6,74 % H.

Es war also offenbar, dass die vorher analysirten Präparate aus der Galle von etwas Farbstoff verunreinigt gewesen waren. Als einen wahren Ausdruck der Zusammensetzung des s. g. Gallenschleimes führe ich also hier nur die Resultate der Kohlen- und Wasserstoffbestimmung für die Präparate $2^b$ und 3 an, während die Stickstoffbestimmungen aller 3 Präparate als wenigstens annähernd ganz richtig neben den Schwefelbestimmungen hier angeführt werden.

| | C: | H: | N: | S: | Asche: |
|---|---|---|---|---|---|
| No. 1. | — | — | 16,10 % | 1,58 % | 0,4 %. |
| No. 2. | 50,87 % | 6,74 % | 16,09 % | 1,74 % | 0,73 %. |
| No. 3. | 50,91 % | 6,73 % | 16,22 % | 1,64 % | 1,36 %. |
| Mittel: | 50,89 % | 6,735 % | 16,14 % | 1,66 %. | |

Die gute Uebereinstimmung, welche zwischen den Präparaten 2 und 3 besteht, dürfte, wenn sie mit den übereinstimmenden qualitativen Reactionen zusammengehalten wird,

einen guten Beweis für die Identität der aus der Galle und aus der Schleimhaut gewonnenen Substanzen liefern. Der Schwefelgehalt der analysirten Substanz ist höher als er in den Schleimsubstanzen gefunden wird. Vor Allem aber ist der Stickstoffgehalt bedeutend höher; und dieser Umstand, wie auch die Unfähigkeit des Gallenschleimes, beim Sieden mit verdünnten Säuren eine reducirende Substanz zu liefern, spricht entschieden gegen die Mucinnatur dieses Stoffes.

Die Schleimsubstanz der Galle scheint auch eine phosphorhaltige Substanz zu sein. In der mit Kalihydrat und Salpeter erhaltenen Schmelze habe ich regelmässig Phosphorsäure gefunden, und zwar in solcher Menge, dass, wenn sämmtliche Aschenbestandtheile als $Ca_3 P_2 O_8$ berechnet werden, ohne Ausnahme ein Ueberschuss an Phosphor für das Gallenmucin übrig bleibt. Wie gross der wahre Phosphorgehalt des Gallenschleimes ist, kann ich nicht angeben, da ein Theil der gefundenen Phosphorsäure allem Anscheine nach als Calcium- oder Eisenphosphat präformirt in den Präparaten enthalten ist und da ich — vielleicht wegen dem wechselnden Aschegehalt der verschiedenen Präparate — keine genügend übereinstimmenden Zahlen für die Phosphorsäure fand. Ich kann, wie gesagt, nur sagen, dass der sogenannte Gallenschleim ein phosphorhaltiger Stoff zu sein scheint.

Die Schlüsse, welche man aus den hier mitgetheilten Beobachtungen ziehen kann, sind folgende: Aus dem hohen Stickstoffgehalte, wie auch aus der Unfähigheit, beim Sieden mit verdünnten Säuren eine reducirende Substanz zu geben, kann man den Schluss ziehen, dass der Gallenschleim keine echte Mucinsubstanz ist. Die Ansicht von Landwehr, dass es um eine eiweissartige Substanz sich handelt, ist also richtig. Diese eiweissartige Substanz unterscheidet sich weiter von dem Mucin darin, dass sie bei Abwesenheit von Gallensäuren in überschüssiger Essigsäure löslich ist. Mit den Mucinen hat sie dagegen die physikalische, schleimige Beschaffenheit gemeinsam, und sie unterscheidet sich hierdurch ganz bestimmt von den Globulinen. Von diesen unterscheidet sie sich weiter durch die relative Schwerlöslichkeit in Essigsäure; und aus

diesen Verhältnissen, wie auch aus dem Umstande, dass aus Globulinlösung und s. g. schleimfreier Galle nie eine Lösung von der physikalischen Beschaffenheit der filtrirten schleimhaltigen Galle erhalten werden kann, folgt weiter, dass der Gallenschleim nicht, wie Landwehr annimmt, ein Gemenge von Gallensäuren und Globulin sein kann.

Die Schleimsubstanz der Galle ist also weder echtes Mucin, noch Globulin; und es fragt sich also, welcher Art sie sein kann. Erinnert man sich, dass sie eine phosphorhaltige Substanz ist, welche bei der Pepsinverdauung unter Abscheidung von einer Fällung sich spaltet, so liegt wohl auch die Annahme am nächsten, dass sie eine zu der Nucleoalbumingruppe gehörende Substanz sei. Diese Annahme hat auch nichts Widerstrebendes, wenn man sich erinnert, dass Hammarsten[1]) in der Synovia ein Nucleoalbumin von den physikalischen Eigenschaften des Mucins gefunden hat.

Neben dem nun abgehandelten Stoffe dürfte doch auch vielleicht, wenn auch nur in sehr geringer Menge, echtes Mucin in der Galle vorhanden sein. Ich habe wenigstens einige Male auch sehr kleine Mengen einer in überschüssiger Essigsäure unlöslichen Substanz in der Galle beobachtet. Die Menge war doch eine so kleine, dass sie keine weitere Untersuchung gestattete.

Die Menge der in der Galle vorkommenden Schleimsubstanz scheint eine sehr wechselnde zu sein; aber immer ist diese Menge sehr gering und sie dürfte im Allgemeinen um etwa 0,1 % schwanken.

---

1) Om Synovians Kevmi. Upsala Läkareförenings Förhandlingar. Bd. 17. Maly's Jahresbericht, Bd. 12, 1882.

# Kleinere Mittheilungen.

Von

**Prof. E. Salkowski.**

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Institutes zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 30. September 1887.)

## I. Hat das Kreatinin basische Eigenschaften?

Schon früher[1]) habe ich darauf aufmerksam gemacht, dass die Angabe, welche dem Kreatinin stark alkalische Reaction zuschreibt, unrichtig ist und dass eine etwa vorhandene alkalische Reaction auf Verunreinigung mit alkalisch reagirenden Aschenbestandtheilen beruht, welche aus verschiedenen Quellen stammen können, namentlich aus dem bei der Darstellung angewendeten Baryumcarbonat. Diese meine Angabe hat keine allgemeine Anerkennung gefunden; so zählt Bunge[2]) das Kreatinin noch unter den Mitteln auf, welche dem Organismus zur Tilgung der in ihm entstehenden Säuren zu Gebot stehen.

Dieser Umstand veranlasst mich, nochmals auf diesen Gegenstand zurückzukommen. Auf's Neue muss ich behaupten, dass möglichst reines Kreatinin nur minimal alkalisch reagirt und dass auch diese minimale alkalische Reaction nur auf Verunreinigung mit Aschenbestandtheilen beruht, welche ganz zu vermeiden nicht möglich zu sein scheint, sowie weiterhin, dass das Kreatinin keine Säure bindet, ebensowenig wie etwa das Leucin.

113 Milligr. Kreatinin wurden in Wasser gelöst, die Lösung tropfenweise mit $^1/_4$ Normalschwefelsäure versetzt.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 133.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 62.

Wenn das Kreatinin in der That Säure bindet, würde die angewendete Quantität 1 cbcm. Normalsäure oder 4 cbcm. $^1/_4$ Normalsäure bis zum Eintritt neutraler Reaction (für Lacmus oder Rosolsäure) erfordern. Thatsächlich genügte dagegen ein Tropfen der $^1/_4$ Normalsäure, um der Lösung neutrale, 2 bis 3 Tropfen, um ihr ausgeprägt saure Reaction zu ertheilen. Von einer Bindung von Säure kann also nicht die Rede sein.

Dieses Ergebniss legt den Gedanken nahe, dass auch die Angabe, das Kreatinin vermöge Ammoniak aus seinen Salzen auszutreiben, unrichtig sein möchte. Zur Prüfung derselben habe ich eine Anzahl von Versuchen angestellt. Da mein Vorrath an völlig reinem Kreatinin gering war, wendete ich nur kleine Mengen desselben an und entsprechend wenig Chlorammonium. Die Quantität des ausgetriebenen $NH_3$ wurde colorimetrisch mit Nessler'schem Reagens bestimmt. Allerdings sind die so erhaltenen Werthe nur approximative, bei den geringen Mengen Ammoniak, um die es sich handelte, verdienen sie aber doch mehr Vertrauen, wie die etwa durch eine acidimetrische Bestimmung ermittelten.

Es war zunächst zu untersuchen, wieviel Ammoniak aus verdünnten Lösungen von Chlorammonium beim Destilliren unter möglichst gleichen Bedingungen entweicht. Zu dem Zweck wurden 10 cbcm. einer Lösung, die in jedem Cubikcentimeter 1 Milligr. $NH_3$ als $NH_4Cl$ enthält, mit 90 cbcm. Wasser der Destillation unterworfen. Die Destillation geschah in einem Kolben mit eingeschliffenem Glasstopfen, der sich direct in ein Rohr verlängert. Auf diesem Wege wurde ein Fehler durch etwaige Absorption von Ammoniak durch den Kork vermieden.

Nachdem etwa $^3/_4$ des Kolbeninhaltes überdestillirt war, wurde die Destillation unterbrochen und das Destillat auf 110 cbcm. verdünnt[1]), der $NH_3$-Gehalt des Destillates ergab

---

[1]) Auf 110 cbcm. verdünne ich stets, um mich zuerst über den $NH_3$-Gehalt des Destillates orientiren zu können, ohne das Volumen des Destillates unter 100 zu bringen, was für manche Fälle wünschenswerth ist.

sich colorimetrisch zu 0,396 Milligr., somit waren 3,96 % des Chlorammonium zersetzt.

Versuch II. 10 cbcm. Chlorammoniumlösung, 0,113 gr. Kreatinin, 90 cbcm. Wasser. Die angewendete Quantität Kreatinin hätte somit, als Base wirkend, 1,7 mal so viel $NH_3$ austreiben können, als in der Flüssigkeit vorhanden war. Es wurde zunächst etwa ¾ abdestillirt, dann ebenso verfahren, wie bei Versuch I. Das Destillat enthielt 1,1 Milligr. $NH_3$. Nunmehr wurde weiter destillirt bis auf wenige Tropfen. Das Destillat enthielt 0,99 Milligr. $NH_3$; somit sind im Ganzen ausgetrieben 2,09 Milligr. $NH_3$ oder 20,9 % des vorhandenen $NH_3$.

Es lagen nun ausser der directen Einwirkung des Kreatinins auf das Chlorammonium noch mehrere Möglichkeiten zur Erklärung dieses Ergebnisses vor: 1. es konnte bei so weit getriebener Destillation auch aus der Chlorammoniumlösung allein mehr $NH_3$ entweichen; 2. es konnte das Kreatinin an sich durch Zersetzung Ammoniak geliefert haben; 3. es konnte der Aschengehalt des Kreatinins an der Ammoniakentwicklung betheiligt sein.

Zur Prüfung dieser Möglichkeiten wurden folgende weitere Versuche angestellt.

Versuch III. 10 cbcm. Chlorammoniumlösung, 90 cbcm. Wasser bis auf wenige Tropfen destillirt. Der Ammoniakgehalt des Destillates betrug 0,44 Milligr. = 4,4 %.

Versuch IV. 0,113 Kreatinin + 100 Wasser bis auf wenige Tropfen abdestillirt. Das Destillat ist fast ammoniakfrei, es enthielt nur 0,02 Milligr. $NH_3$, also eine Quantität, die durchaus vernachlässigt werden kann.

Versuch V. 0,113 gr. Kreatinin in der Platinschaale bei gelinder Temperatur verascht, die kaum sichtbare Asche mit 90 cbcm. Wasser in den Kolben gespült, alsdann 10 cbcm. Chlorammoniumlösung hinzugesetzt, bis auf wenige Tropfen abdestillirt. Der $NH_3$-Gehalt des Destillates betrug 0,66 Milligr., somit waren 6,6 % des vorhandenen Chlorammonium zersetzt.

Nach diesen Versuchen ist somit die erste und zweite Möglichkeit ausgeschlossen, die dritte bis zu einem gewissen

Grade wirksam, an einer directen Einwirkung des Kreatinins auf das Chlorammonium aber nicht zu zweifeln.

Auffallenderweise ist somit das Kreatinin, trotzdem ihm alkalische Reaction mangelt, im Stande, eine, wenn auch quantitativ sehr beschränkte, Einwirkung auf Chlorammonium auszuüben.

Es lag nahe, zu vermuthen, dass auch andere stickstoffhaltige Körper, welche Salze bilden, speciell die Amidosäuren, eine gleiche Wirkung auf Chlorammonium haben könnten. Ein Versuch mit Leucin bestätigte diese Vermuthung jedoch nicht.

Selbstverständlich beanspruchen die ermittelten Resultate keine allgemeine Gültigkeit als Zahlenwerthe, ich zweifle nicht daran, dass die Zahlen bei verschiedenen Versuchen in Folge geringer, selbst unbeabsichtigter Differenzen in den Versuchsbedingungen etwas wechseln werden. Es genügt mir, aus den Versuchen zu schliessen, dass das Kreatinin eine gewisse, beschränkte Einwirkung auf Ammonsalz bei Siedetemperatur ausübt.

Steht nun dieses auch fest, so ist es doch auf der anderen Seite auch möglich, durch einen Ueberschuss von Ammoniak Kreatininchlorzink zu zersetzen. Versetzt man eine kaltgesättigte wässerige Lösung von Kreatininchlorzink mit Ammoniak im Ueberschuss, erhitzt die Lösung zum Sieden und erhält sie einige Zeit darin, so trübt sie sich bald unter Ausscheidung von grösstentheils pulverigem Zinkoxyd (dieser Niederschlag ist nicht etwa Kreatininchlorzink, sondern in der That Zinkoxyd). Filtrirt man ab und erhitzt die Lösung auf's Neue, so scheidet sich wiederum Zinkoxyd ab etc. Schliesslich aber kommt man zu einem Punkt, wo die auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllte Lösung sich beim Kochen nicht mehr trübt. In diesem Zeitpunkt reagirt die Lösung neutral und enthält nur noch Spuren von Zink gelöst, sie enthält dagegen Chlorammonium und Kreatinin. Dampft man sie ein, zieht mit absolutem Alkohol aus, verdunstet den alkoholischen Auszug zur Trockne, löst den Rückstand in wenig Wasser und setzt Chlorzinklösung hinzu, so scheidet sich sofort Kreatininchlorzink krystallinisch aus

— ein Beweis, dass die Lösung nicht salzsaures Kreatinin enthielt, sondern Kreatinin selbst.

Aus allen diesen Beobachtungen folgt, dass das Kreatinin nicht im Stande ist, Säuren unter Aufhebung oder auch nur Beeinträchtigung ihrer sauren Reaction zu binden.

## II. Ueber die Farbenreactionen des Eiweiss.

Seitdem es feststeht, dass ein Theil des Eiweissmolecüls in die Reihe der aromatischen Substanzen gehört, haben die lange bekannten Farbenreactionen des Eiweiss ein erhöhtes Interesse gewonnen, da dieselben zum Theil ohne Zweifel mit der aromatischen Gruppe des Eiweiss im Zusammenhang stehen.

Alle bisher aus dem Eiweiss durch Fäulnisszersetzung dargestellten aromatischen Substanzen lassen sich ohne Zwang in 3 Gruppen theilen, die Phenolgruppe (I.), in welche das Tyrosin, die aromatischen Oxysäuren, das Phenol, Kresol gehören, die Phenylgruppe (II.), zu welcher man die Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure zu rechnen hat, und die Indolgruppe (III.), welche das Indol, Skatol und die Skatolcarbonsäure umfasst. Mag man nun annehmen, dass diese Gruppen schon im Eiweissmolecül präformirt sind, oder mag man es mit Maly[1]) für wahrscheinlich erachten, dass im Eiweiss nur eine aromatische Gruppe präformirt ist, und die erwähnten Gruppen nur mit grosser Leichtigkeit aus dem Eiweiss entstehen, in jedem Fall ist die Frage berechtigt, auf welche der drei Gruppen die einzelnen Farbenreactionen zu beziehen sind. Bereits vor mehreren Jahren habe ich hierüber eine Reihe von Versuchen angestellt, von einer Publication aber mit Rücksicht auf eine in den Sitzungsberichten der Jen. Gesellsch. für Med. und Naturw., 1885, S. 122, erschienene Abhandlung von Krukenberg «über das Zustandekommen der sogenannten Eiweissreactionen», welche gleichfalls hauptsächlich die Farbenreactionen behandelt, Abstand genommen. Bei näherer Erwägung erscheint mir aber jetzt doch die Mittheilung meiner Versuchsergebnisse nicht überflüssig.

---

[1]) Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wissensch., Bd. 9, III. Abth., S. 151.

### 1. Die Millon'sche Reaction.

Die Reaction mit Millon's Reagens zeigt bekanntlich das Eiweiss und die Verdauungsproducte desselben, dagegen nur andeutungsweise der Leim und das Leimpepton.

Die Reaction kann in Eiweisslösungen ganz ausbleiben bei Gegenwart von viel Chlornatrium, wie ich früher schon angegeben habe[1]). Der Grund dafür liegt offenbar in der Umsetzung der Nitrate und Nitrite des Quecksilbers in Chlorid resp. Chlorür.

Kühne[2]) hat bereits in seinem Lehrbuch die Vermuthung ausgesprochen, dass die Reaction des Eiweiss mit Millonschem Reagens auf dem im Eiweiss präformirten Tyrosin beruhen möchte. Einen bestimmten Ausdruck hat dieser Ansicht O. Nasse[3]) gegeben, welcher gleichzeitig nachwies, dass nur diejenigen Benzolderivate, in denen ein H durch Hydroxyl vertreten ist, diese Reaction zeigen, dagegen nicht die Derivate, in denen mehr als 1 Atom H durch OH ersetzt wird.

Ueber die Deutung der Millon'schen Eiweissreaction besteht seitdem wohl allgemeine Uebereinstimmung.

In der That kann man sich leicht überzeugen, dass von den durch Fäulnisszersetzung erhaltenen Eiweissderivaten nur diejenigen, welche der ersten Gruppe angehören, mit Millon'schem Reagens eine Reaction geben, die der 2. und 3. Gruppe dagegen nicht.

Dies gilt aber nur, wenn man sich einer genau nach der ursprünglichen Vorschrift[4]) hergestellten Millon'schen

---

1) Virchow's Archiv, Bd. 81, S. 552.

2) Lehrb. d. physiol. Chemie, 1868, S. 110.

3) Sitzungsber. der naturf. Gesellsch. zu Halle v. 31. März 1879.

4) Siehe diese in Heintz' Lehrb. der Zoochemie, 1853, S. 605. «Eine bei sehr gelinder Wärme bereitete Lösung von 1 Gewichtstheil Quecksilber in 1 Gewichtstheil Salpetersäure, welche 4½ Aeq. Wasser auf 1 Aeq. wasserfreie Säure enthält (das ist ungefähr Salpetersäure von 1,4 spec. Gew.). Die Lösung wird vor dem Gebrauch mit 2 Vol. Wasser verdünnt.» Die Lösung kann übrigens ohne Schaden auch weniger verdünnt sein.

Lösung bedient, nicht aber, wenn man, wie es häufig geschieht, eine beliebige Lösung von Quecksilber in heisser Salpetersäure benutzt oder bei Anstellung der Reaction, wie vielfach empfohlen wird, noch besonders Kaliumnitrit hinzusetzt. Dadurch können Irrthümer nach 2 Richtungen hin entstehen.

1. Mit einer solchen nicht vorschriftsmässig hergestellten Lösung tritt die Reaction mit Phenol und den Oxysänren sehr viel schlechter ein. Liegen irgend stärker verdünnte Lösungen dieser Säure vor, so verschwindet beim Erhitzen die ursprüngliche rothe Färbung und macht einer ganz uncharacteristischen Gelbfärbung Platz, ja bei sehr verdünnter Lösung kann jede Reaction (Rothfärbung) ausbleiben. Plugge[1]) empfiehlt zur Anstellung der Reaction mit Phenol geradezu eine Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxydul, die eine Spur salpetrige Säure enthält.

2. Eine fehlerhafte Lösung giebt, wie leicht erklärlich, auch mit Indol und Skatolcarbonsäure Reaction, während dies eine richtig hergestellte Lösung nicht thut. Indollösung färbt sich beim Erwärmen mit der fehlerhaften Lösung bald (mehr oder weniger) carmoisinroth, während sie sich mit richtigem Reagens gelb färbt und kaum eine Spur von Roth auftritt. Die Lösung völlig reiner Skatolcarbonsäure färbt sich schmutzig rothbraun.

Es ist also vor dem Gebrauch einer nicht nach Vorschrift hergestellten Lösung und auch vor dem Zusatz von rauchender Salpetersäure oder Kaliumnitrit zu warnen, ganz besonders dann, wenn man irgend welche aus Eiweisskörpern erhaltenen Lösungen mit Millon'schem Reagens prüft in der Absicht, aus dem Eintreten oder Nichteintreten der Reaction Schlüsse auf die Natur des in der Lösung enthaltenen Derivates zu machen.

Auch der Leim giebt eine zwar schwache, aber unzweifelhafte Reaction. Es mag dahingestellt bleiben, ob sie dem Leim als solchem zukommt oder auf Beimischung von

---

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. XI, S. 173.

Pepton zum Leim beruht, die sich kaum vermeiden lässt, jedenfalls ist auch in diesem Fall die Reaction auf die Phenol-Atomgruppe zurückzuführen. Dafür spricht, dass sich unter den Producten der trocknen Destillation reinster Gelatine nach Weidel und Ciamician[1]) Spuren von Phenol finden.

## 2. Die Xanthoprotein-Reaction

beruht ohne Zweifel auf Bildung von Nitroderivaten. Diese Anschauung ist wohl schon lange die allgemein herrschende. Welche Nitroproducte sich bilden, wird einigermassen von den besonderen Bedingungen abhängen.

Vor einer Reihe von Jahren hat O. Löw[2]) ein Trinitroalbumin und ein Oxytrinitroalbumin beschrieben, deren Existenz als chemische Individuen wohl einigem Zweifel unterliegt. Vor Kurzem haben Nencki und Sieber[3]) durch Eintragen von trocknem Eiweiss in rauchende Salpetersäure direct aus Eiweiss p-Nitrobenzoësäure erhalten. Die Bildung dieser Säure setzt indessen eine sehr energische Einwirkung voraus, die bei der gewöhnlichen Xanthoprotein-Reaction, der Regel nach, nicht stattfinden wird, die Säure ist ausserdem farblos, demnach an der Xanthoprotein-Reaction nicht betheiligt.

Directe Versuche mit den einzelnen Eiweissderivaten haben mir folgende Resultate ergeben. Es wurden bei den Versuchen sehr geringe Quantitäten der betreffenden Substanzen mit reiner Salpetersäure von 1,2 spec. Gew. zum Sieden erhitzt.

1. Die Körper der Gruppe I ergaben unter diesen Umständen alle starke Reaction, namentlich die Oxysäuren und das Phenol, sie werden also leicht nitrirt unter Bildung gelbgefärbter Derivate, etwas weniger leicht reagirt das Tyrosin, wie wohl schon bekannt.

---

1) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 14, S. 1009.
2) Journ. f. pract. Chemie, N. F., Bd. 5, S. 433.
3) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XVIII, S. 394.

2. Die Lösungen der Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure in Salpetersäure färbten sich beim Erhitzen fast gar nicht, auch mit rauchender Salpetersäure nur wenig, sie werden also durch schwache Salpetersäure nicht nitrirt, resp. die entstehenden Nitroderivate sind ungefärbt. Dasselbe gilt auch für die im Eiweiss mit Wahrscheinlichkeit als präformirt anzunehmende Phenylamidopropionsäure[1]) E. Schulze's.

3. Von den Körpern der Gruppe III geben starke Reaction das Skatol und die Skatolcarbonsäure; schwieriger wird das Indol angegriffen, wenn man nicht rauchende Salpetersäure hinzusetzt.

Für die Xanthoprotein-Reaction des Eiweiss wird also in erster Linie die Phenolgruppe, ausserdem auch die Indolgruppe in Betracht kommen, nicht oder nur in ganz untergeordnetem Grade die Phenylgruppe.

Die Xanthoprotein-Reaction kann unter Umständen recht gut zur Schätzung und annähernden quantitativen Bestimmung von Pepton (vielleicht auch von Eiweiss) dienen. Das gewöhnlich hierzu benutzte, von Schmidt-Mülheim herrührende Verfahren — Zusatz von Natronlauge und Kupfersulfat und Vergleichung der Farbenintensität mit einer ebenso behandelten Peptonlösung von bekanntem Gehalt — leidet bekanntlich an einer Reihe von Uebelständen: 1. geben Leim und Leimpepton dieselbe Violetfärbung; 2. ist es sehr schwer, den Zusatz von Kupfersulfat so zu bemessen, dass die höchste Farbenintensität und doch dabei dieselbe Nuance der Färbung erzielt wird, wie in der Vergleichslösung; 3. ist die Eigenfärbung der zu untersuchenden Flüssigkeit oft sehr störend. Von allen diesen Einwendungen ist das auf der Xanthoprotein-Reaction beruhende Verfahren frei. Leim und Leimpepton kommen nicht in Betracht, da sie nur minimale Xanthoprotein-Reaction geben; die Erzielung der grössten Farbenintensität unterliegt keinen Schwierigkeiten und die Eigenfärbung der Flüssigkeit stört nicht, abgesehen etwa von

---

[1]) Das Präparat verdanke ich der Güte von Herrn Prof. E. Schulze in Zürich.

ganz abnormen Fällen. Dass Körper, wie Phenol etc., nicht zugegen sein dürfen, ist selbstverständlich.

### 3. Die Reaction von Adamkiewicz.

Vor einer Reihe von Jahren hat Adamkiewicz[1]) eine schöne Farbenreaction beschrieben, welche Eiweisskörper in essigsaurer Lösung mit Schwefelsäure gebe. Versetzt man die Lösung irgend eines Eiweisskörpers in nicht zu wenig Eisessig mit concentrirter Schwefelsäure, so färbt sie sich schön purpurfarben mit grünem Reflex, jedoch ist dieser nach meinen Erfahrungen nicht constant. Spektroskopisch zeigt die Lösung nach Adamkiewicz bei passender Verdünnung einen Absorptionsstreifen zwischen b und F, wie das Urobilin. Constant scheint der Streifen nicht zu sein, doch habe ich genauere Versuche hierüber nicht angestellt. Nach Krukenberg[2]) sieht man zuerst ein Absorptionsband zwischen D und E neben einer schwachen Absorption zwischen E und F, allmälig schwindet der erstere Absorptionsstreifen, während der zweite deutlicher wird und allmälig allein zurückbleibt. — Die Reaction kommt, wie Adamkiewicz gleichfalls ermittelt hat, auch dem Pepton resp. den Hemialbumosen zu, dagegen nicht dem Leim und Leimpepton.

Die Reaction ist sehr scharf und sicher, sie kann indessen nach meinen Erfahrungen ausbleiben beim (albumosenhaltigen) Pepton, wenn die Lösung sehr concentrirt ist. Löst man z. B. eine kleine Messerspitze Fibrinpepton in $^1/_3$ Reagensglas voll Eisessig, lässt erkalten und setzt dann concentrirte Schwefelsäure hinzu, so tritt keine Purpurfärbung ein, sondern nur intensiv citronengelbe Färbung mit starker grüner Fluorescenz. An dieser Abweichung ist nicht der Mangel an Wasser Schuld; denn setzt man zu der Eisessiglösung vorher etwas Wasser, so bleiben die Erscheinungen unver-

---

1) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. VIII, S. 161. — Pflüger's Arch., Bd. IX, S. 157. — Arch. f. exper. Path., Bd. III, S. 423.

2) Chemische Unters. zur wiss. Medic., S. 100.

ändert, verdünnt man dagegen die essigsaure Peptonlösung vorher stark mit Eisessig, so verläuft die Reaction in der gewöhnlichen Weise. Diese Abweichung beeinträchtigt natürlich den practischen Werth der Probe nicht, da es leicht ist, die ungewöhnlichen Bedingungen, welche zu einem Misslingen der Reaction führen, zu vermeiden.

Die Versuche mit den Fäulnissderivaten des Eiweiss wurden so angestellt, dass der betreffende Körper direct in Eisessig gelöst und die Schwefelsäure langsam zufliessen gelassen wurde. War der Eisessig zur Lösung der Substanz vorher erhitzt, so liess ich die Lösung vor dem Zusatz der Schwefelsäure erkalten. Die Schwefelsäure mischt sich so langsam mit der Eisessiglösung und die Reaction entwickelt sich in einer mehr oder weniger breiten Zone. Eine vollständige Durchmischung finde ich nicht rathsam; es kommt vor, dass die Reaction alsdann misslingt oder schlecht ausfällt, vielleicht in Folge zu starker Erhitzung.

Irgend merkliche Farbenerscheinungen traten nicht ein bei: Phenylessigsäure, Phenylpropionsäure, Amidophenylpropionsäure, Phenol, käuflichem Kresol, aus Eiweissfäulniss erhaltenem Phenol- resp. Kresol-Gemisch, p-Oxyphenylessigsäure und Hydroparacumarsäure. Dagegen ergaben Färbungen die Körper der Gruppe III.

Die kalt bereitete essigsaure Lösung der Skatolcarbonsäure färbt sich schon ohne Zusatz von Schwefelsäure beim Stehen ein wenig rosa. Die Färbung nimmt zu bis zur Purpurfarbe nach Zusatz von Schwefelsäure, auch grüner Reflex ist bemerkbar, die Farbenerscheinungen erreichen aber keine besondere Intensität. Ausserordentlich verstärkt wird die Färbung und der grüne Reflex durch vorsichtigen Zusatz eines Minimum von Kaliumnitritlösung. Der Zusatz darf nur minimal sein, ist er zu gross, so äussert er die entgegengesetzte Wirkung: die Purpurfarbe verschwindet und macht einer rothen, schliesslich gelbrothen Färbung Platz, der grüne Reflex bleibt dabei meistens erhalten. Uebrigens verhält sich die Eiweissreaction ähnlich, auch bei dieser gelang es mir öfters, eine Verstärkung der Färbung durch ein Mini-

mum von $KNO_2$ herbeizuführen, während ein weiterer Zusatz die Färbung nach Roth hin modificirt.

Die Farbenerscheinungen, welche beim Zusatz von Schwefelsäure zur essigsauren Lösung des Indols und Skatols, sowie bei nachträglichem Zusatz eines Minimum von $KNO_2$ auftreten, sind nicht constant. Es gelingt zwar öfters, auch aus diesen Körpern eine purpurfarbene Lösung zu erhalten, öfters aber auch nicht. Die relativen Mengenverhältnisse der in Betracht kommenden Substanzen sind hier offenbar von grossem Einfluss.

Soviel kann man als sicher betrachten, dass für das Zustandekommen der Reaction von Adamkiewicz von den aromatischen Gruppen des Eiweiss nur die dritte in Betracht kommt, während es zweifelhaft bleibt, ob nur die Skatolcarbonsäure an derselben betheiligt ist, oder auch die beiden anderen Körper.

### 4. Die Reaction mit starker Salzsäure.

An derjenigen Reaction der Eiweisskörper, deren Bedingungen neuerdings L. Liebermann[1]) näher präcisirt hat, der Blaufärbung resp. Violetfärbung mit starker Salzsäure, scheint die aromatische Gruppe des Eiweiss nicht betheiligt zu sein, wenigstens ist es mir nicht gelungen, irgend in Betracht kommende Farbenerscheinungen beim Erhitzen der einzelnen Fäulnissderivate mit rauchender Salzsäure zu erhalten.

## III. Ueber den Einfluss der Phenylessigsäure auf den Eiweisszerfall.

(Nach Versuchen von Dr. A. Kotoff.)

Vor mehreren Jahren hat Herr Dr. A. Kotoff aus Petersburg auf meine Veranlassung Versuche über den — gemäss einer früher berichteten Beobachtung[2]) anscheinend sehr erheblichen — Einfluss der Phenylessigsäure an Kaninchen angestellt. Da eine Publication von Herrn Dr. Kotoff nicht erfolgt ist, so theile ich hier die Versuchsresultate mit, um

1) Centralbl. f. d. med. Wiss., 1887, No. 18.

2) Diese Zeitschr., Bd. VII, S. 175.

sie nicht verloren gehen zu lassen, mit den Schlussfolgerungen, welche sich aus einer Betrachtung der Versuchsresultate ergeben.

Die Phenylessigsäure wurde stets als Natriumsalz eingeführt (gelöst) und zwar 2 gr. pro Tag, nur der Harn untersucht und zwar stets der von 2 Tagen stammende Harn vereinigt; alles Uebrige erhellt aus den Tabellen.

Versuch I.

| Datum. | Bezeichnung der Periode. | Körpergewicht. | N im Harn. | Gesammt-Schwefelsäure als $SO_3$. | Gebundene Schwefelsäure als $SO_3$. | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 17. + 18. | Normalperiode. | 2640 | 1,656 | 0,158 | 0,021 | Pro Tag 150 gr. Kartoffeln. |
| 19. + 20. | do. | 2433 | 1,185 | 0,103 | 0,017 | |
| 21. + 22. | Fütterungsperiode. | 2258 | 2,658 | 0,192 | 0,017 | Nichts gefressen. Am 24. todt gefunden. |

Die Schwankungen in der Quantität der aufgenommenen Nahrung bildeten ohne Zweifel eine unerwünschte Complication; in den folgenden Versuchen wurde daher die Nahrungsaufnahme der Willkür ganz entzogen. Das Thier erhielt als ausschliessliche Nahrung 50 cbcm. Milch von gleichmässiger Beschaffenheit durch den Catheter in den Magen. Um es nicht zu Alkalimangel im Körper kommen zu lassen, wurde der Milch täglich 1 gr. eines Gemisches von weinsaurem Natronkali mit etwas kohlensaurem Kali zugesetzt.

Versuch II.

| Datum. | Bezeichnung der Periode. | Körpergewicht. | N im Harn. | Gesammt-Schwefelsäure als $SO_3$. | Gebundene Schwefelsäure als $SO_3$. | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 3. + 4. | Normal- | 2260 | 2,308 | 0,250 | 0,077 | |
| 5. + 6. | do. | 2170 | 3,077 | 0,255 | 0,099 | |
| 7. + 8. | do. | 2065 | 2,184 | 0,207 | 0,069 | |
| 9. + 10. | Fütterungs- | 1955 | 3,024 | 0,415 | 0,041 | |
| 11. + 12. | do. | 1700 | 4,180 | 0,512 | 0,047 | Am 14. todt gefunden. |

## Versuch III.

| Datum. | Bezeichnung der Periode. | N im Harn. | Gesammt-Schwefelsäure als $SO_3$. | Gebundene Schwefelsäure als $SO_3$. | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|
| 18. + 19. | Normal- | 1,134 | 0,244 | 0,049 | |
| 20. + 21. | do. | 2,002 | 0,217 | 0,077 | |
| 22. + 23. | Fütterungs- | 3,003 | 0,567 | 0,046 | Am 25. todt gefunden. |

## Versuch IV.

| Datum. | Bezeichnung der Periode. | N im Harn. | Gesammt-Schwefelsäure als $SO_3$. | Gebundene Schwefelsäure als $SO_3$. | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|
| 30. + 31. | Normal- | 3,431 | 0,271 | 0,089 | |
| 1. + 2. | do. | 3,570 | 0,228 | 0,082 | |
| 3. + 4. | Fütterungs- | 4,80 | 0,481 | 0,065 | |
| 5. + 6. | do. | 4,255 | 0,580 | 0,086 | Das Thier starb nach einigen Tagen. |

## Versuch V.

| Datum. | Bezeichnung der Periode. | Körpergewicht. | N im Harn. | Gesammt-Schwefelsäure als $SO_3$. | Gebundene Schwefelsäure als $SO_3$. | Bemerkungen. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. + 2. | Normal- | 1642 | 2,60 | 0,240 | 0,082 | |
| 3. + 4. | do. | 1548 | 2,471 | 0,251 | 0,070 | |
| 5. + 6. | Fütterungs- | 1363 | 4,290 | 0,521 | 0,062 | |

Aus diesen Versuchen ergiebt sich:

1. Die N-Ausscheidung zeigt ausnahmslos eine ansehnliche Steigerung.

2. Dasselbe gilt für die Gesammtschwefelsäure.

3. Die gebundene Schwefelsäure zeigt mit einer Ausnahme durchweg eine Abnahme, die im vorliegenden Falle ohne Zweifel auf eine Verminderung der Fäulnisszersetzung im Darmkanal zu beziehen ist.

Fr. Müller[1]) hat vor Kurzem mit Recht hervorgehoben, dass für die Beurtheilung der Fäulnissprocesse weniger das relative Verhältniss der gepaarten Schwefelsäure zu der gesammten, als die absolute Menge der ersteren in Betracht kommt.

In der That ist es einleuchtend, dass die Abnahme des gewöhnlich benutzten Quotienten $\frac{\text{gebundene Schwefelsäure}}{\text{präformirte Schwefelsäure}}$ keineswegs unbedingt eine Verringerung der Fäulniss des Eiweiss im Darm bedeutet. So gut dieser Quotient kleiner werden kann durch eine Verminderung der gepaarten Schwefelsäure, ebenso gut kann er auch abnehmen durch eine Steigerung des Eiweisszerfalles im Körper, bei welcher naturgemäss die präformirte Schwefelsäure, nicht aber die gebundene steigt. Viel richtiger ist es, nach Fr. Müller die absolute Quantität der gebundenen Schwefelsäure als Massstab für den Fäulnisszerfall zu betrachten. Aus diesem Grunde habe ich auch von der Berechnung dieses Quotienten Abstand genommen; er würde im vorliegenden Fall, bei der erheblichen Steigerung des Zerfalles von Körpereiweiss, zu ganz falschen Vorstellungen über die Grösse der Verminderung der Eiweissfäulnis geführt haben. Vorhanden ist eine solche Verminderung der Eiweissfäulniss ohne Zweifel, wie die Abnahme der ausgeschiedenen gebundenen Schwefelsäure zeigt. Diese Abnahme ist um so beweisender für eine antiseptische Wirkung des phenylessigsauren Natron im Darm, als ja die Quantität der eingeführten Nahrung, also auch des zersetzbaren Eiweissmaterials im Darm an allen Tagen dieselbe ist. Selbstverständlich kann eine Abnahme der gepaarten Schwefelsäure auch eintreten, wenn es an zersetzungsfähigem Material im Darmkanal mangelt. Auf eine antiseptische Wirkung einer

---

1) Zeitschr. f. klin. Medicin, Bd. XII, S. 19.

eingeführten Substanz im Darm kann man nur schliessen, wenn die Abnahme der gebundenen Schwefelsäure bei fortgesetzter gleichmässiger Ernährung und ohne Diarrhöen eintritt.

Die Wirkungen der Phenylessigsäure gehen auch aus folgender Berechnung (für die bei Milchfütterung angestellten Versuche) hervor.

An sämmtlichen (18) Normaltagen betrug die N-Ausscheidung 22,777 gr. oder die tägliche Ausscheidung im Mittel 1,254. An den Fütterungstagen die tägliche Ausscheidung 1,921 gr. Berechnet man ebenso die Werthe für die Gesammtschwefelsäure und die gebundene Schwefelsäure, so ergiebt sich tägliche Ausscheidung im Mittel:

| | N. | Gesammt-Schwefelsäure als $SO_3$. | Gebundene Schwefelsäure als $SO_3$. |
|---|---|---|---|
| Normaltag . . . . . . . . | 1,254 | 0,120 | 0,038 |
| Fütterungstag . . . . . . | 1,921 | 0,256 | 0,028 |

Setzt man die Mittelwerthe für die Normaltage = 100, so ergiebt sich für die Fütterungstage die Stickstoffausscheidung = 153, die Gesammtschwefelsäure = 213, die gebundene Schwefelsäure = 74.

Auch aus dieser Betrachtung geht die Steigerung der N-Ausscheidung und Schwefelsäureausscheidung, sowie die Verminderung der gebundenen Schwefelsäure hervor, es ist jedoch sehr auffällig, dass die Schwefelsäure weit stärker zugenommen hat, als die Stickstoffausscheidung. Eine plausible Erklärung hierfür ist zur Zeit ohne weitere Untersuchungen nicht möglich.

An eine practische Verwerthung der antiseptischen Wirkung des phenylessigsauren Natron ist selbstverständlich nicht zu denken, dazu ist die Wirkung trotz der enormen Dosen, die in Anwendung kamen, viel zu gering.

### IV. Ueber die spontane Zersetzung des Bilirubins.

Ein stark icterisch gefärbter Harn, welcher längere Zeit unter Auftreten ammoniakalischer Gährung sich selbst überlassen worden war, hatte seine characteristische Färbung eingebüsst und gab weder die Gmelin'sche, noch die Huppert'sche Gallenfarbstoffreaction mehr, welche vorher an demselben constatirt waren. Mit Salzsäure angesäuert, liess er Chloroform beim Schütteln ungefärbt, während er demselben in frischem Zustand eine sehr ausgeprägte Gelbfärbung ertheilt hatte. Dasselbe Verhalten wurde noch an einem anderen Icterus-Harn constatirt. Die Versuche, mit Hülfe von Extractionsmitteln und Fällungsmitteln noch Reste von unverändertem Gallenfarbstoff nachzuweisen, fielen negativ aus. Ebenso wenig gelang es, irgend ein characteristisches Umwandlungsproduct des Gallenfarbstoffs aufzufinden: überall resultirten nur dunkelgefärbte amorphe Massen; von einer Beschreibung der eingeschlagenen Wege kann daher abgesehen werden.

Diese allmälige Umwandlung des Bilirubins, vielleicht unter Mitwirkung von Bacterien, in uncharacteristische Farbstoffe ist meines Wissens noch nicht erwähnt, sie scheint mir von Interesse im Hinblick auf die mitunter bei Icterus beobachtete Entleerung dunkler Farbstoffe im Harn, welche keine Gallenfarbstoffreaction geben, wiewohl sie ohne Zweifel mit dem Gallenfarbstoff im Zusammenhang stehen.

### V. Eine Modification der Hoppe-Seyler'schen Natronprobe auf Kohlenoxydhämoglobin.

Neben dem ursprünglichen Verfahren des Zusatzes von Natronlauge direct zum Blut finde ich folgende kleine Modification recht vortheilhaft.

Man verdünnt das fragliche Blut mit destillirtem Wasser auf das 20fache und setzt alsdann zu der Lösung im Reagensglas das gleiche Volumen Natronlauge von 1,34 spec. Gew. hinzu. Handelt es sich um Kohlenoxydblut, so wird die Mischung in wenigen Augenblicken zuerst weisslich trüb, dann

lebhaft hellroth. Beim Stehen der Probe scheiden sich hellrothe Flocken ab, die sich allmälig zusammenballen und eine schwach rosa gefärbte Flüssigkeit zwischen sich lassen, endlich sich in der Regel an der Oberfläche der Flüssigkeit sammeln. Die aus genuinem Blut hergestellte Lösung zeigt auf Zusatz des gleichen Volumens Natronlauge schmutzigbräunliche Verfärbung.

Nach 24stündigem Stehen hat sich in beiden Fällen der Niederschlag wieder gelöst, beide Proben erscheinen klar und von lebhaft rother Farbe, sie zeigen fast dieselben Absorptionsstreifen, wie Oxyhämoglobinlösungen.

## Zur Kenntniss der melanotischen Farbstoffe. Erwiderung auf die Entgegnung Nencki's.

Von

**K. A. H. Mörner.**

(Der Redaction zugegangen am 7. November 1887.)

Neulich hat Herr Professor Nencki[1]) eine Kritik über meine vor einem Jahre erschienene Abhandlung[2]) veröffentlicht. Durch eine Fülle von Missverständnissen sind darin meine damaligen Angaben entstellt worden, wesshalb es meine Pflicht ist, eine Antwort zu geben.

Wenn man einen Aufsatz beurtheilen will, muss man ihn wohl zuerst **genau** durchlesen, und wenn Herr Nencki bezüglich meiner Arbeit sich diese Mühe gemacht hätte, würde seine Entgegnung gewiss ein anderes Aussehen gehabt haben. Seite 28 sagt Herr Nencki Folgendes: «Die procentische Zusammensetzung seines» (Mörner's) «nicht veränderten Farbstoffes wechselt mit allen möglichen Zahlen innerhalb folgender Grenzen: C 55,3—58,0%, H 5,6—8,0%, N 11,0—12,3%, S 4,7—10,1%, Asche 2,0—9,30% und dabei Fe 0,25—0,028%. Da ziehe ich doch meinen veränderten, aber in der Zusammensetzung constanteren Farbstoff vor.» Es ist im Allgemeinen nicht schwierig, eine Arbeit zu entstellen und verdächtig zu machen; besonders leicht ist dies aber, wenn man, wie es Herr Nencki hier gethan hat, dasjenige zusammenwirft, was der Verfasser ausdrücklich auseinander gehalten hat. Es ist nämlich Herrn

1) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. 24, 1887, S. 27.
2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 11, 1886, S. 66.

Nencki gänzlich entgangen, oder jedenfalls ignorirt er es vollständig, dass ich (S. 128) meine Präparate in zwei Gruppen unter zwei Rubriken angeführt habe. Ich unterscheide nämlich zwischen den in Essigsäure nicht löslichen und den in dieser Säure löslichen Präparaten, von denen ich ausdrücklich (S. 132) sage, dass sie nicht identisch sind, wenn auch eine nahe Verwandtschaft zwischen ihnen sich vorfindet. Dass die Zusammensetzung nicht identischer Farbstoffe nicht unbedeutende Abweichungen aufzuweisen hat, ist wohl nie früher als etwas Auffallendes betrachtet worden. Mehr als unzulässig ist es, dass Herr Nencki nicht erwähnt, dass ich (S. 132) in Betreff eines der in Essigsäure löslichen Präparate (No. 6) die Behauptung aufgestellt habe, «dass es zum grossen Theil aus anderen Farbstoffen (Zersetzungsproducte aus dem Urin) bestanden hat», da es doch Herrn Nencki wohl schwerlich entgangen sein kann, dass es gerade dieses Präparat ist, welches in die von ihm gemachte Zusammenstellung die grössten Differenzen (58,07 % C, 8,03 % H, 11,08 % N und 4,75 % S) einführt. Dieses Verfahren Nencki's ist um so unberechtigter, als ich (S. 134) nur die in starker Essigsäure unlöslichen Präparate mit seinen Präparaten verglichen habe. Aber selbst die drei in Essigsäure unlöslichen Präparate dürfen nicht ohne Weiteres mit einander zusammengestellt werden, da ich in Betreff des aus dem Bleiniederschlage des Harns dargestellten Präparates (S. 129) zwar annehme, «dass es wesentlich aus derselben Substanz (wie die übrigen) bestanden habe», auf Grund der niedrigeren spectrophotometrischen Constante aber vermuthe, «dass es durch etwas anderen Farbstoff mit grösserer Farbstärke (wie vielleicht einen der Farbstoffe, die man aus dem Urin als Zersetzungsproducte erhält) verunreinigt gewesen ist». Die Analyse dieses Präparates gab S 8,30 %, Fe 0,25 %. Obgleich dieses Präparat keine nennenswerthe Abweichung von den übrigen zeigt, darf es also aus obigem Grunde nicht mitgerechnet werden.

Was soll man aber sagen, wenn man findet, dass Herr Nencki in seine Zusammenstellung meiner Analysen auch

solche Präparate mit aufnimmt, die ich in der Absicht, sie zu verändern, bearbeitet und darum auch (S. 104 und 123) als verändert bezeichnet habe? Dies ist z. B. der Fall mit meinem Präparate No. 2, Tab. 12, welches, mit Salzsäure gekocht den höchsten Schwefelgehalt (10,18 %) und den niedrigsten Eisengehalt (0,028 %) zeigte. Bezüglich der geringen Abweichung des Stickstoffgehaltes eines anderen ebenfalls mit Salzsäure behandelten Präparates verweise ich auf das Seite 123 Gesagte.

Dem nun Gesagten zufolge sind es nur zwei Präparate, deren Analysen mit einander verglichen werden können, und welche Präparate ich auch (S. 129) als übereinstimmend bezeichnet habe, nämlich einerseits das in Essigsäure unlösliche Präparat, welches aus den Geschwülsten dargestellt wurde, und andererseits das aus dem Barytniederschlage des Harns dargestellte Präparat. Die Analyse des ersteren Präparates gab C 55,32 und 56,13 %, H 5,65 und 6,33 %, N 12,30 %, S 7,97 %, Fe 0,063 und 0,081 %, auf aschenfreie Substanz bezogen (Asche 2,02 %). Die Analyse des zweiten Präparates gab C 55,76 %, H 5,95 %, N 12,27 %, S 9,01 %, Fe 0,20 %, ebenfalls für aschenfreie Substanz berechnet (Asche 9,38 %).

Es möchte mir vielleicht gestattet sein, durch noch einige Beispiele die Art und Weise zu beleuchten, auf welche Herr Nencki meine Abhandlung gelesen und referirt hat. In seiner Entgegnung (S. 28) fragt er, mit welchem Rechte ich die übrigen (ausser dem Eisen) von mir gefundenen Bestandtheile «wie Kalk, Baryt, Kieselsäure, Phosphorsäure u. s. w.» ignorire. Wenn Herr Nencki in meiner Abhandlung Seite 96, 101, 115, 122 nachliest, wird er finden, dass die untersuchten Präparate phosphorfrei befunden wurden; nur einmal, nämlich in einem Präparate aus dem Bleiacetatniederschlage des Harns, fand ich (S. 111) Spuren von Phosphorsäure. Ebenso darf ich die Kieselsäure ignoriren, da ich darauf nicht untersucht (S. 96) und sie also nicht gefunden habe. Das «u. s. w.» hat in meiner Abhandlung keine Begründung.

Nachdem ich nun die Art und Weise, auf welche Herr Nencki es passend findet, über die Arbeiten Anderer zu berich-

ten, beleuchtet habe, will ich zu der Frage übergehen, welchen Werth sein Reden von der constanteren Zusammensetzung seines eigenen Farbstoffes eigentlich beanspruchen kann. In Betreff der von Berdez und Nencki[1]) analysirten Präparate heisst es (S. 351): «Die sehr nahe liegenden Zahlen jedoch, die wir für das von Salzsäure ungelöste und das aus der salzsauren Lösung beim Eindampfen abgeschiedene Phymatorhusin erhielten, sprechen dafür, dass wir ein einziges chemisches Individuum mit nur Spuren fremder Beimischungen analysirten.» Diese «sehr nahe liegenden Zahlen» zeigen doch Differenzen von 0,8% C (53,10—53,90%), 0,95% N (10,06—11,01%) und 1,44% S (10,04—11,48%), und wenn man die Analysen richtig berechnet (siehe unten), findet man noch grössere Abweichungen. Die Differenzen sind für den Kohlenstoff ebenso gross, für den Schwefel grösser und für den Stickstoff unvergleichlich grösser als in meinen eben citirten Analysen — und doch sind die Präparate des Herrn Nencki alle aus Geschwülsten dargestellt, während ich ein aus Geschwülsten und ein aus dem Harne dargestelltes Präparat analysirte. Ueber die Differenz von 1,05 in dem Schwefelgehalte spreche ich mich (S. 129) folgendermassen aus: «Da die beiden Präparate im Uebrigen eine so gute Uebereinstimmung zeigten, so kann man auf Grund der an und für sich nicht besonders bedeutenden Verschiedenheit im Schwefelgehalt derselben, ungeachtet die Frage von der Ursache dieser Verschiedenheit noch offen gelassen werden muss, nicht sagen, dass sie verschiedene Substanzen darstellten, höchstens dass wir in ihnen etwas veränderte Präparate derselben Substanz zu sehen haben.» Wenn nun Herr Nencki meine Worte «an und für sich nicht besonders bedeutend» losreisst und höhnisch, wie er es thut, mir entgegentritt, so ist er dazu gewiss nicht berechtigt, da er, der «geübte Analytiker» (Entgegnung S. 29), die von ihm erhaltene noch grössere Differenz, 1,44% S, als von «nur Spuren fremder Beimischungen» herrührend ansieht.

---

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 20, 1886, S. 348—353.

Ich gehe nun zur Besprechung des Aschen- und Eisen-Gehaltes meiner Präparate über. Der Aschengehalt stammt davon her, dass der Farbstoff mit alkalischen Erden Verbindungen eingeht, aus welchen die Asche nicht ohne Verwendung stärkerer Säuren zu entfernen ist. In Alkalilauge, Alkalicarbonat oder Alkaliphosphat löste sich diese Verbindung klar auf und wurde durch Zusatz von Essigsäure wieder ausgefällt. Durch Essigsäure konnten die Aschenbestandtheile nicht ausgezogen werden, und die in Essigsäure löslichen Präparate liessen sich sogar durch Zusatz von Barytwasser noch bei stark saurer Reaction als Barytverbindung ausfällen. Da ich alle Präparate — ausser dem in Essigsäure unlöslichen aus den Geschwülsten, das in Verbindung mit Magnesiumhydroxid ausgefällt wurde — mit Barytwasser ausgefällt habe und das Erwärmen mit stärkeren Säuren vermeiden wollte, so ist es ganz natürlich, dass dieselben aschenhaltig zur Untersuchung kamen.

Ferner frägt es sich: Kann nicht das Eisen in eben solcher Weise, wie die alkalischen Erden, mitgerissen und aus diesem Grunde in den Präparaten gefunden worden sein? Da ich in meiner Abhandlung diese Frage nicht besonders besprochen habe, so darf ich meine Behauptung, dass das Eisen einen integrirenden Theil des Farbstoffes ausmache, etwas näher begründen. Wenn ich nur die Geschwülste untersucht hätte, würde ich wahrscheinlich das Eisen als von Hämatin herrührend angesehen haben. Nun ist aber meine Behauptung wesentlich auf die Untersuchung des Barytniederschlages des Harns basirt. Der Harn enthält aber, nach Hamburger[1]), keine Eisensalze. Von den angewandten Reagentien, Barytwasser, Sodalösung, Natronlauge und Essigsäure kann man nicht füglich den Eisengehalt herleiten. Blut fand sich nie in dem Harne vor. Kann eine andere organische eisenhaltige Substanz, wie es solche in normalem Harne giebt, den Eisengehalt bedingt haben? Keinenfalls. Aus normalem Harn konnte ich (S. 139) durch Barytwasser nur ganz unbedeu-

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 2, 1878–79, S. 193.

tende Mengen von Farbstoff ausfällen, welcher übrigens durch Essigsäure aus der alkalischen Lösung nicht ausgeschieden wurde und also den untersuchten Melanosarkomfarbstoff nicht verunreinigen konnte. Uebrigens enthält der von Giacosa[1]) beschriebene Harnfarbstoff nicht mehr als 0,3 % Fe, und wenn man von dieser Substanz das Eisen herleiten will, würde also mein Präparat mit 0,20 % Fe zum grössten Theil aus solcher bestanden haben, dem die Unlöslichkeit in Weingeist, Aether und Amylalkohol (S. 95) entschieden widerspricht. Das Eisen dieses meines Präparates scheint mir also keinen anderen wahrscheinlichen Ursprung haben zu können, als den, dass es dem Farbstoffe selbst zuhört.

Noch eine andere Thatsache spricht meiner Behauptung das Wort. Aus dem Barytniederschlage erhielt ich noch ein anderes, etwas verschiedenartiges Präparat, das vermittelst der Löslichkeit in Essigsäure abgesondert werden konnte. Aus der essigsauren Lösung (S. 95) wurde das Präparat bei saurer Reaction als Barytverbindung ausgeschieden; dieses Präparat enthielt dieselbe Eisenmenge (0,19 % Fe). Es ist wohl kaum wahrscheinlich, dass ein Eisensalz bei saurer Reaction ausgeschieden worden wäre, wenn sich nur eine geringe Menge desselben in der Lösung vorgefunden hätte, und man kann wohl weiter kaum erwarten, dass ein auf obige Weise dargestelltes Präparat als Verunreinigung gerade dieselbe Eisenmenge mit niedergerissen haben würde, welche die Essigsäure in dem unlöslichen Präparate zurückgelassen hatte. Aus den Geschwülsten wurde (S. 116) sogar ein (in Essigsäure lösliches) Präparat dargestellt, welches durch Eintragen von Magnesiumsulfat in der von freier Salzsäure und Schwefelsäure sauren Lösung abgeschieden wurde; darauf wurde das Präparat durch Lösen in Natronlauge und Ausfällung, ferner durch Lösen in Essigsäure und Abscheidung bei saurer Reaction als Barytverbindung gereinigt; der verschiedenen Darstellung ungeachtet enthielt auch dieses Präparat dieselbe Eisenmenge (0,21 %), wie ich in den vorerwähnten

---

[1]) Annali di chimica, 1886, Separatabdruck.

Präparaten aus dem Harn gefunden habe. Ist dies alles nur ein Zufall? Mir scheint das eine sehr unwahrscheinliche Annahme zu sein. Die Präparate aus dem Bleiacetatniederschlage des Harns enthielten zwar auch ziemlich gut übereinstimmende Eisenmengen; da aber in dem Harn Stoffe vorzukommen scheinen, die etwa denselben Eisengehalt haben, und da ich keines dieser Präparate von anderem Farbstoffe völlig frei ansehe, dürfen sie zur Entscheidung der Frage nicht verwerthet werden. In zwei Präparaten, welche ich mit Salzsäure in der Wärme behandelt habe, und zwar nur in diesen, wurde ein beträchtlich niedrigerer Eisengehalt (resp. 0,072 % und 0,028 % Fe) gefunden. Auf Grund des Gesagten muss ich meine Behauptung aufrecht erhalten, dass das Eisen, welches ich in meinen Farbstoffpräparaten gefunden habe, einen integrirenden Theil des Farbstoffes ausmache und nicht als eine zufällige Beimischung betrachtet werden darf, dass aber dieses Eisen durch Erwärmen mit Salzsäure ziemlich leicht abgespaltet wird. Eine solche organische Eisenverbindung ist nicht ohne ihr Analogon. Als solches kann das Nucleïn, welches Bunge[1]) isolirt und Hämatogen benannt hat, angesehen werden. Auch diese Substanz enthält eine nur geringe Menge Eisen (0,29 % Fe), welches doch als ein integrirender Theil des organischen Moleküls angesehen werden darf. Das Eisen wird aber schon durch Reagentien abgespaltet, welche, soweit bekannt ist, das Nucleïnmolekül im Uebrigen nicht angreifen. So wurde das Eisen schon in der Kälte durch Salzsäure, je leichter um so concentrirter die Säure, ferner durch Alkalilauge und durch Schwefelammonium abgetrennt.

Dass ein thierischer Farbstoff einer tiefgreifenden Veränderung unterliegen kann, ohne dass dies durch eine Aenderung der Farbe oder der Löslichkeit des Präparates sich kundgiebt, ist von Nencki und Sieber[2]) dargethan worden, indem die Hippomelaninsäurepräparate, die nach je 1/4- und 1 stün-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 9, S. 49.
[2]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak., Bd. 24, S. 18.

digem Schmelzen mit Kalihydrat erhalten wurden, unter einander um mehrere Procente Kohlenstoff differiren, obgleich sie in Farbe und Löslichkeit übereinstimmen. Die Möglichkeit, dass ein Melanosarkomfarbstoff vom Menschen eine Veränderung seines Gehaltes an Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff oder Schwefel ohne eine augenscheinliche Veränderung der Farbe oder der Löslichkeit erleide, kann nicht ohne Weiteres zurückgewiesen werden. Dass eine solche Veränderung, wie ich es (S. 134) annahm, durch Kochen mit Salzsäure durchgeführt werden kann, scheint von Herrn Nencki bezweifelt zu werden. Meine diesbezüglichen Experimente sprechen jedoch gegen die Berechtigung eines solchen Zweifels. In einem Versuche erhöhte sich nämlich der Schwefelgehalt nach einstündigem Erwärmen mit Salzsäure (von 10%) von 9,01 auf 10,18% (S. 104)[1]; ein anderes Mal sah ich eine geringe Verminderung des Stickstoffgehaltes (von 12,30 auf 12,06%) nach zehnstündigem Erwärmen mit Salzsäure von 10%, welchen Befund ich aber wegen der geringen Menge des analysirten Präparates nicht als entscheidend ansehe (S. 123). Auf Grund dieser Experimente würde ich doch die Möglichkeit, dass die Phymatorhusinpräparate Nencki's bezüglich ihrer Zusammensetzung verändert worden waren, nicht hervorgehoben haben, wenn ich nicht, wie später gezeigt werden wird, in der oben citirten Abhandlung von Berdez und Nencki eine Stütze hierfür gefunden zu haben glaubte. Ich komme nun auf «die Spuren fremder Beimischungen» oder, wie es in der Entgegnung des Herrn Nencki (S. 29) heisst, das «reine Phymatorhusin» zurück. Diese Beimischungen, wenn überhaupt zugegen, dürften wohl aus Eiweissstoffen bestanden haben (durch Abwesenheit von Phosphor sind Nucleïne ausgeschlossen). Da das Phymatorhusin durch seinen hohen Schwefelgehalt gekennzeichnet ist, darf wohl das schwefelreichste Präparat von Berdez und Nencki als das am wenigsten verunreinigte angesehen werden. Der

[1]) Dies kann nicht dadurch erklärt werden, dass die Salzsäure Eiweiss ausgelöst hatte, indem das Präparat, welches aus eiweissfreiem Harn dargestellt wurde, kein Eiweiss enthalten konnte.

Schwefelgehalt in drei von ihren Präparaten war resp. 10,13, 10,04 und (aus Salzsäure abgeschieden) 11,05—11,48 % S. Will man eine Differenz von 1,44 % S durch Beimengung von Eiweiss erklären, so würden die «Spuren» in dem schwefelärmsten Präparate nicht weniger als 13—15 % betragen haben. Die Zahl 11,48 ist doch nach einer anderen Methode als die übrigen erhalten; aber auch wenn man von dem Schwefelgehalte von 11,05 % S als richtig ausgeht, würde der Eiweissgehalt des Präparates mit 10,04 % S noch $9^1/_2$—11 % betragen (der Schwefelgehalt des Eiweisses ist nach Herrn Nencki zu 0,5—1,8 % angenommen). Aus anderen Gründen ist es indessen unmöglich, diese Differenzen durch Beimengung von Eiweiss zu erklären, weil dann der niedrigere Schwefelgehalt von einem erhöhten Stickstoffgehalte (etwa $11^3/_4$ % statt 10,59 % N) begleitet sein müsste. Da Differenzen von 1,44 % S und 0,95 % N allzu gross sind, um die Annahme Nencki's zu rechtfertigen, dass die Präparate nur aus einem chemischen Individuum bestanden haben, ferner eine Beimengung von Eiweiss die Differenzen nicht erklärt, und auch für die Annahme von einer Verunreinigung mit einer stickstoffärmeren, schwefelreicheren Substanz keine Gründe vorliegen, so scheint mir — eine ungenaue Arbeit ausgeschlossen — die Annahme die wahrscheinlichste zu sein, dass die Farbstoffe durch eine ungleich energische Behandlung mit Salzsäure eine theilweise Zersetzung erfahren haben.

Noch Einiges will ich aus der Abhandlung Berdez und Nencki's hervorheben. Seite 353 theilen sie die Analyse eines Präparates mit, das sich beim Erkalten der Lösung in Essigsäure abschied. «Schon beim Verbrennen auf Platinblech, wobei die Substanz den Geruch nach verbranntem Harn verbreitete, konnte man sehen, dass sie nicht ganz eiweissfrei war. Die Elementaranalyse bestätigte diese Vermuthung.» Die mitgetheilten Zahlen der Analyse sind: C 54,88 %, H 5,38 %, N 13,37 %, S 9,66 %. Was die Analyse auch beweisen mag, jedenfalls bestätigt sie nicht diese Annahme, eher beweist sie das Gegen-

theil. Ein Gemenge aus Eiweiss und einem Phymatorhusinpräparat von Berdez und Nencki kann nämlich nicht diese Zusammensetzung haben. Ein Stickstoffgehalt von 13,37 $^0/_0$ kann, wenn man am günstigsten rechnet (Eiweiss 17 $^0/_0$ N und Phymatorhusin 11,01 $^0/_0$ N), nicht weniger als 40 $^0/_0$ Eiweiss entsprechen, und eine solche Mischung kann nicht mehr als 7,6 $^0/_0$ (statt 9,66 $^0/_0$) Schwefel enthalten haben. Wenn man vom Schwefelgehalte ausgeht und am günstigsten rechnet (Eiweiss 1,8 $^0/_0$ S und Phymatorhusin 11,48 $^0/_0$ S), so kann ein Schwefelgehalt von 9,66 $^0/_0$ S nicht mehr als 19 $^0/_0$ Eiweiss entsprechen und der Stickstoffgehalt dieses Gemenges kann nicht mehr als 12,15 $^0/_0$ N betragen. Wenn man mit Mittelzahlen rechnet, stellt sich die Sache noch ungünstiger: dann wäre entweder der Schwefelgehalt nicht höher als 6 $^0/_0$ oder der Stickstoffgehalt nicht höher als 11,1 $^0/_0$ N gewesen. Befremdend ist es auch, dass der Kohlenstoffgehalt nicht unbeträchtlich höher ist als das Maximum der für das Eiweiss oder das Phymatorhusin Nencki's gefundenen Zahlen.

In Betreff der Analysenzahlen ist hervorzuheben, dass sie grosse Fehler aufzuweisen haben. Zuerst ist der Aschengehalt dieses Präparates unrichtig angegeben. In einer früheren, von Berdez[1]) in der französischen Sprache gelieferten Publication derselben Untersuchungen findet man (S. 348) dieselbe Analyse wieder, wo die Aschenmenge zu 0,0153 gr. gewogen ist. Dass diese Zahl die wahre ist und sie nicht einen Druckfehler (0,0153 gr. statt 0,00153 gr.) enthält, geht daraus hervor, dass einerseits die Gewichtsbestimmungen sonst nie in $^1/_{100}$ mgr. angegeben sind, andererseits die Zahl 0,0153 bei der Berechnung der gleichzeitig ausgeführten Kohlen- und Wasserstoffbestimmung verwendet ist (wäre die Aschenmenge nur 0,00153 gr. gewesen, so würden der Kohlenstoff und der Wasserstoff zu 52,8 $^0/_0$ C und 5,2 $^0/_0$ H statt zu 54,88 $^0/_0$ C und 5,38 $^0/_0$ H berechnet worden sein). Die Aschenprocente

---

[1]) Revue médicale de la Suisse Romande, Bd. 5, 1885, S. 341—356.

hat aber Berdez unrichtig zu 0,41 % statt zu 4,15 % berechnet. In der deutschen Publication von Berdez und Nencki ist diese Inconsequenz corrigirt worden, aber nicht so, dass der Aschengehalt mit der wahren Zahl, 4,15 %, aufgeführt wird, sondern so, dass die Aschenmenge zu 0,0015 gr. statt zu 0,0153 gr. angegeben ist.

Weiter ist zu bemerken, dass die Zahlen der Stickstoffbestimmung nicht folgerichtig sind. Nach den angegebenen Zahlen (und 0,4 % Asche) beträgt der Stickstoffgehalt nicht 13,37 %, sondern 11,37 %. Wenn nicht diese Zahl in den beiden Publicationen dieselbe (13,37 %) wäre, würde man dies vielleicht als einen Druckfehler deuten. Mit Berücksichtigung des wahren Aschengehaltes (4,15 %) berechnet, beträgt der Stickstoffgehalt 11,81 %.

Der Schwefelgehalt, welcher ohne Berücksichtigung etwaigen Aschengehaltes berechnet ist, wird, wenn der Aschengehalt 4,15 % eingeführt wird, nicht 9,66 % S, sondern 10,07 % S betragen, und derselbe fällt also innerhalb der für die anderen Phymatorhusinpräparate gefundenen Grenzen. Dadurch fällt eine Stütze für die gegebene Interpretation der Analysen dieses Präparates weg.

Auch wenn man auf die Analysen des «reinen, aschenfreien Phymatorhusins von Berdez und Nencki» (Entgegnung S. 29) etwas näher eingeht, findet man bemerkenswerthe Dinge. In beiden Ausgaben (in der Arbeit Berdez' S. 347, in der deutschen Ausgabe von Berdez und Nencki S. 352) findet sich die Analyse eines aus Salzsäurelösung ausgeschiedenen Präparates wieder. In 0,2730 gr. der Substanz wurden 0,0064 gr. Asche gefunden, welche Berdez zu 1,22 % statt, wie richtig, zu 2,34 % berechnet. In der deutschen Ausgabe ist zwar das Gewicht der Asche, aber nicht die Procentzahl wiedergegeben. Das «aschenfreie Phymatorhusin» enthielt bis 2,34 % Asche! Ich habe oben darauf hingewiesen, wie grosse Differenzen die mitgetheilten Analysenzahlen für das «reine Phymatorhusin» von Berdez und Nencki zeigen. Noch grössere Differenzen finden sich, wenn man

die Analysen richtig berechnet. Seite 347 in der französischen Arbeit, Seite 351 der deutschen Ausgabe wird die Analyse eines Präparates mit 1,11 % Asche mitgetheilt. Eine Kohlenstoffbestimmung, welche 53,58 % gab, ist angeblich auf aschenfreier Substanz berechnet. Dem ist aber nicht so: aschenfrei berechnet beträgt nämlich der Kohlenstoffgehalt nicht 53,58 % C, sondern 54,2 % C. Mit Berücksichtigung dieser Zahl, welche die höchste ist, ergiebt sich die Differenz der Kohlenstoffbestimmungen nicht zu 0,8 %, wie oben angegeben, sondern zu 1,1 % C. Noch mehr wird bei richtiger Rechnung die Differenz der Schwefelbestimmungen erhöht. Zwei Schwefelbestimmungen der eben genannten Substanz gaben resp. 10,13 % S und 10,04 % S. Die Zahl 10,13 stimmt zwar gut mit dem Anderen überein, — aber sie ist von Berdez unrichtig berechnet. Richtig berechnet gab die Analyse nicht 10,13 % S, sondern 12,77 %. Dies kann nicht von einem Druckfehler abhängen, da die Zahl in den beiden Ausgaben dieselbe ist; übrigens kann dies durch einen Druckfehler einer der Zahlen, welche das Gewicht der Substanz und des Baryumsulfates wiedergeben, nicht erklärt werden. Diese Zahlen würden dann entweder 0,3164 gr. Substanz statt 0,251 gr. oder 0,1851 gr. Baryumsulfat statt 0,2334 gr. betragen haben. Solche Druckfehler sind gänzlich unwahrscheinlich. Diese doppelte Schwefelbestimmung Berdez', in einer und derselben Substanz ausgeführt, gab also resp. 12,77 % S und 10,04 % S, daher eine Differenz von nicht weniger als 2,73 % S. Ist Herr Professor Nencki auch mit dieser Uebereinstimmung zufrieden?

Stockholm, November 1887.

# Ueber das Adenin.

Von

**A. Kossel.**

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 30. November 1887.)

Bei der Zersetzung des Nucleïns durch verdünnte Säuren entsteht, wie ich in einer früheren Abhandlung[1]) gezeigt habe, neben den übrigen stickstoffreichen Basen eine Substanz, welcher die Formel $C_5H_5N_5$ zukommt und für die ich den Namen «Adenin» vorgeschlagen habe. Die Verbreitung dieser Substanz in den Organen der Thiere und Pflanzen entspricht ihren genetischen Beziehungen zu dem charakteristischen Bestandtheil des Zellkerns. Ich habe dieselben aus den Pankreasdrüsen und aus der Milz, hingegen nicht aus dem kernarmen Muskelgewebe darstellen können, ferner fand ich sie in der Bierhefe und in dem Extract von Theeblättern. Herr Dr. F. Kronecker untersuchte auf meine Veranlassung Milz, Lymphdrüsen und Nieren von Rindern und konnte den sichern Nachweis des Adenins in diesen Organen führen[2]). Herr Dr. Stadthagen[3]) fand das Adenin in der Leber und im Harn eines Leukämischen. Letzterer Befund steht in guter Uebereinstimmung mit der Erklärung, welche ich für das Auftreten der stickstoffreichen Basen in den leukämischen Organen gegeben habe[4]). In den thierischen und pflanzlichen

---

1) Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 248.
2) Virchow's Archiv, Bd. 107, S. 207.
3) Virchow's Archiv, Bd. 109, S. 390.
4) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 22.

Geweben ist das Adenin nicht in freiem Zustand vorhanden, sondern es ist mindestens zum Theil in lockerer Verbindung mit Eiweiss und Phosphorsäure. Diese Verbindung wird sowohl durch die Einwirkung verdünnter Säuren in der Siedehitze, als auch durch spontane Zersetzung nach dem Tode gelöst.

Meine Untersuchungen waren zunächst darauf gerichtet, die früher von mir gemachten Angaben über die Eigenschaften des Adenins zu vervollständigen.

### Sublimation des Adenins.

Bereits in der ersten Abhandlung habe ich angegeben, dass beim Erhitzen des Adenins ein Sublimat auftritt. Dasselbe besteht, wie weitere Untersuchungen zeigten, aus unzersetztem Adenin. Das Sublimat ist rein weiss, federähnlich, sehr leicht und erscheint unter dem Mikroskop als loses Aggregat kleiner Nadeln. Es löst sich in heissem Wasser, nach dem Erkalten schiessen Krystalle an, die bei 53° ihr Krystallwasser verlieren und die früher beschriebenen Eigenschaften des Adenins zeigen. Bei 220° kann die Base im Oelbad völlig unzersetzt sublimirt werden. Bei 250° tritt theilweise Zersetzung ein.

### Salze des Adenins.

Salzsaures Adenin. Die Krystalle dieses Salzes sind nach gütiger Mittheilung des Herrn Dr. Scheibe «durch-«sichtig, theilweise stark glänzend, mit dem Axenverhältniss

$$a : b : c = 2{,}0794 : 1 : 1{,}8127$$
$$\beta = 61^{0}\ 40'.$$

«Beobachtet wurden die Formen $\infty P \overline{\infty}$, $oP$, $\infty P$, $\infty P'2$, «$+ P \overline{\infty}$, $- mPn$ $(- \frac{1}{2} P' \frac{5}{2})$».

Dieselben sind zusammengesetzt nach der Formel:

$$C_5H_5N_5 \,.\, HCl + {}^1/_2\, H_2O.$$

Die Analysen des krystallwasserfreien Salzes führten zu folgenden Resultaten:

1. 0,2145 gr. gaben 0,2740 gr. $CO_2$ und 0,0715 gr. $H_2O$.
2. 0,3280 gr. gaben 0,2736 gr. AgCl.
3. 0,2253 gr. enthielten 0,0102 gr Krystallwasser.
4. 1,5051 gr. enthielten 0,0783 gr. Krystallwasser.

| | Berechnet für $C_5H_5N_5 . HCl$: | Gefunden: I. | II. |
|---|---|---|---|
| $C_5$ | 34,98 | 34,83 | — |
| $H_6$ | 3,50 | 3,70 | — |
| $N_5$ | 40,81 | — | — |
| Cl | 20,70 | — | 20,63. |

| | Berechnet für $C_5H_5N_5 . HCl + {}^1/_2 H_2O$: | Gefunden: I. | II. |
|---|---|---|---|
| Wasser | 4,98 | 4,52 | 5,20. |

1 Thl. des wasserfreien Salzes löst sich in 41,9 Th. Wasser.

Salpetersaures Adenin bildet zierliche sternförmig gruppirte Nadeln, welche der Formel

$$C_5H_5N_5, HNO_3 + {}^1/_2 H_2O$$

entsprechen.

Die Analysen des krystallwasserfreien Salzes ergaben:

1. 0,1080 gr. gaben 0,1203 gr. $CO_2$ und 0,0330 $H_2O$.
2. 0,0940 gr. gaben 35 cbcm. Stickstoff bei 20° und 762,5 mm. Barometerstand.

| | Berechnet für $C_5H_5N_5 . HNO_3$: | Gefunden: I. | II. |
|---|---|---|---|
| $C_5$ | 30,30 | 30,37 | — |
| $H_6$ | 3,03 | 3,39 | — |
| $N_6$ | 42,42 | — | 42,78 |
| $O_3$ | 24,25 | — | — |

Dies Krystallwasser geht bei einer 100° nur wenig übersteigenden Temperatur sehr langsam fort. Die Bestimmung desselben ergab:

1. 1,9655 gr. verlor bei 110° 0,0837 gr. Wasser.
2. 0,4532 gr. verlor bei 120° 0,0190 gr. Wasser.
3. 0,2631 gr. verlor bei 120° 0,0120 gr. Wasser.

| | Berechnet für $C_5H_5N_5 . HNO_3 + {}^1/_2 H_2O$: | Gefunden: I. | II. | III. |
|---|---|---|---|---|
| Wasser | 4,34 | 4,26 | 4,19 | 4,56. |

Ein Theil des trocknen Nitrats löst sich in 110,6 Th. Wasser.

Die Löslichkeitsverhältnisse des Adenins und der untersuchten Salze sind demnach folgende:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Theil | Adenin | löst sich in . | 1086 | Theilen Wasser. |
| 1 | » | Adeninsulfat | » » » . | 153 | » » |
| 1 | » | Adeninnitrat | » » » . | 110,6 | » » |
| 1 | » | Adeninchlorhydrat | » » » . | 41,9 | » » |

Platinverbindungen des Adenins. Wenn man eine verdünnte Lösung des salzsauren Adenins mit einer verdünnten Platinchloridlösung versetzt, so scheidet sich nach einiger Zeit ein gelbes, in kleinen Nadeln krystallisirendes Platinsalz aus. Dasselbe entspricht der Formel

$$(C_5H_5N_5 . HCl)_2PtCl_4.$$

1. 0,1778 gr. gaben 0,1138 gr. $CO_2$ und 0,0434 gr. $H_2O$.
2. 0,7696 gr. gaben 0,2219 gr. Pt[1]).

| Berechnet für $(C_5H_5N_5 . HCl)_2PtCl_4$: | | Gefunden: I. | II. |
|---|---|---|---|
| $C_{10}$ | 17,59 | 17,45 | — |
| $H_{12}$ | 1,76 | 2,71 | — |
| Pt | 28,92 | — | 28,86. |

Dieses Platinsalz geht beim Erhitzen seiner wässerigen Lösung in eine platinreichere Verbindung über. Demgemäss erhält man höhere Werthe für das Platin, wenn man die Fällung in der heissen Lösung vornimmt. In solchen Niederschlägen wurden gefunden 29,82 und 30,44 % Pt.

Wenn man eine concentrirte Lösung des eben beschriebenen Platinsalzes längere Zeit kocht, so trübt sie sich in Folge Abscheidung eines hellgelben Pulvers, das nach den Analysen als das Salz

$$C_5H_5N_5 . HCl, PtCl_4$$

zu betrachten ist. Dasselbe ist in kaltem Wasser sehr wenig löslich.

1. 0,2327 gr. gaben 0,1029 gr. $CO_2$ und 0,0263 gr. $H_2O$.
2. 0,1645 gr. gaben 20,6 cbcm. Stickstoff bei 23,5° und 755 mm. Bar.
3. 0,2021 gr. gaben 0,0784 gr. Pt.
4. 0,1779 gr. gaben 0,0693 gr. Pt.

| Berechnet für $(C_5H_5N_5 . HCl)PtCl_4$: | | Gefunden: I. | II. | III. | IV. |
|---|---|---|---|---|---|
| $C_5$ | 11,74 | 12,06 | — | — | — |
| $H_6$ | 1,17 | 1,26 | — | — | — |
| $N_5$ | 13,70 | - - | 13,98 | — | — |
| Pt | 38,64 | — | — | 38,79 | 38,83. |

1) Das für die Platinbestimmung benutzte Präparat war durch Zersetzung des Chlorzinkdoppelsalzes gewonnen (s. u.).

Silberverbindungen des Adenins. Bereits in der früheren Mittheilung habe ich erwähnt, dass man durch Fällung einer ammoniakalischen Adeninlösung mit ammoniakalischer Silberlösung in der Siedehitze einen Niederschlag erhält, dessen Zusammensetzung der Formel $C_5H_4N_5Ag$ entspricht, und habe ferner die Vermuthung ausgesprochen, dass ausserdem noch eine zweite Verbindung $C_5H_5N_5$, $Ag_2O$ dargestellt werden könne. Eine erneute Untersuchung hat die Existenz beider Verbindungen dargethan. Welche von beiden entsteht, das ist von der Menge des hinzugefügten Silbers abhängig. Entspricht dieselbe ungefähr einem Atom Silber auf ein Molekül Adenin, so entsteht die erstere, wie folgende Analyse beweist[1]):

| | Berechnet für $C_5H_4N_5Ag$: | Gefunden: |
|---|---|---|
| Ag | 44,63 | 45,14. |

Wird hingegen ein beträchtlicher Ueberschuss von Silber hinzugesetzt, so erhält man die zweite Verbindung:

| | Berechnet für $C_5H_5N_5$, $Ag_2O$: | Gefunden: |
|---|---|---|
| Ag | 58,85 | 58,73. |

Stellt man durch Zusammenbringen aequivalenter Mengen von Adenin und Silber die erste Verbindung her, so enthält der entstehende Niederschlag fast alles Adenin, nur ein kleiner Rest bleibt in Lösung und kann durch Eindampfen des Filtrats gewonnen werden. Ist die Lösung stark ammoniakalisch, so kann eine beträchtliche Menge Adenin der Fällung entgehen.

Chlorzinkdoppelsalz. Dieses Salz erhielt ich gelegentlich, als ich das Adenin behufs Anstellung der Reductionsversuche in der Kälte mit Zink und Salzsäure behandelte. Die aus der sauren Lösung beim Stehen über Kali ausgeschiedenen Krystalle wurden abgesogen. Bringt man dieselben mit wenig Wasser zusammen, so lösen sie sich zunächst auf, aus der wässerigen Lösung fällt indess nach kurzer Zeit ein schwer löslicher Niederschlag in kleinen Krystallen heraus. Derselbe besteht aus einem Chlorzinkdoppelsalz des Adenins und kann durch Umkrystallisiren gereinigt werden. Indess haftet demselben auch nach wiederholtem Umkrystallisiren eine gewisse

1) Vergl. auch diese Zeitschrift, Bd. X, S. 257.

Menge eines durch Reduction entstandenen Körpers an, welche die Analysen des Doppelsalzes unzuverlässig erscheinen lassen[1]). Diese Beimengung giebt sich auch dadurch zu erkennen, dass die Krystalle mit Salpetersäure abgedampft einen gelben Rückstand hinterlassen, der beim Erhitzen mit Natronlauge intensiv roth wird. Diese Reaction giebt das reine Adenin nicht, auch nicht bei Gegenwart von Chlorzink. Durch directe Vereinigung von salzsaurem Adenin und Chlorzink habe ich dies Doppelsalz nicht erhalten. Indess lassen die folgenden Reactionen keinen Zweifel darüber, dass es sich wirklich um ein Salz des Adenins und nicht um das eines Reductionsproductes allein handelt. Aus dem Chlorzinkdoppelsalz konnte ich reines Adenin in krystallisirtem Zustand darstellen, indem ich die wässerige Lösung der Krystalle mit Quecksilberacetat fällte und den Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zersetzte. Löste ich ferner die Krystalle der Zinkverbindung in Wasser und fällte die Lösung mit Platinchlorid, so erhielt ich das Platindoppelsalz des Adenins.

## Substitutionsproducte des Adenins.

Das Adenin ist im Stande, an Stelle eines Wasserstoffatoms die Acetyl- und Benzoylgruppe aufzunehmen. Ebenso bildet das Adenin eine gut krystallisirende Methylverbindung, deren Untersuchung noch nicht beendet ist. Aethylchlorocarbonat wirkt auf die Base in alkalischer Lösung ein unter Bildung eines Substitutionsproductes, welches in Nadeln krystallisirt und sehr leicht zersetzlich ist.

Acetyladenin. Völlig trocknes gepulvertes Adenin (1 gr.) wurde in einem kleinen mit Rückflusskühler versehenen Kolben mit überschüssigem Anhydrid (15 gr.) im Oelbad einige Zeit auf 130°, später bis zum Sieden des An-

---

[1]) Die Analysen ergaben:

| | I. | II. | III. |
|---|---|---|---|
| C | 18,75 | 18,93 | — |
| H | 2,77 | 2,80 | — |
| N | — | — | 22,45. |

hydrids (137°) erhitzt. Das Adenin ging nur zum Theil in Lösung. Beim Erkalten krystallisirten kleine weisse Blättchen und Schüppchen aus. Nachdem das Anhydrid durch mehrfaches Schütteln mit Aether entfernt war, wurde das Product mit kaltem Wasser gewaschen und dann in heissem Wasser gelöst. Beim Erkalten krystallisirte das Acetyladenin in kleinen, wenig glänzenden Schüppchen aus.

1. 0,2340 gr. gaben 0,4035 gr. $CO_2$ und 0,0896 gr. $H_2O$.
2. 0,1582 gr. gaben 53,0 cbcm. Stickstoff bei 17,5° und 770 mm. Bar

| | Berechnet für $C_5H_4N_5 . CO . CH_3$: | Gefunden: I. | Gefunden: II. |
|---|---|---|---|
| $C_7$ | 47,46 | 47,02 | — |
| $H_7$ | 3,95 | 4,25 | — |
| $N_5$ | 39,54 | — | 39,28 |
| O | 9,03 | — | — |

Das Acetyladenin löst sich wenig in kaltem Wasser und in Alkohol, leichter in heissem Wasser, in verdünnten Säuren und Alkalien. Es schmilzt bei 260° noch nicht, färbt sich indess gelb.

Benzoyladenin. Durch die Einwirkung von Benzoylchlorid auf Adenin wurde diese Verbindung nicht erhalten. Dieselbe lässt sich leicht darstellen durch die Einwirkung von Benzoësäureanhydrid. Trocknes gepulvertes Adenin wurde im trocknen Reagensglase mit der 3- bis 4fachen Menge Benzoësäureanhydrid über freiem Feuer vorsichtig erwärmt. Das Adenin löst sich allmählich in dem geschmolzenen Anhydrid auf. Wenn die Auflösung geschehen ist, erhält man noch kurze Zeit im Schmelzen und lässt dann erkalten. Wird die Masse zu stark oder zu lange erhitzt, so färbt sie sich braun. Die Schmelze erstarrt entweder zu einem durchsichtigen Gummi oder zu einem spröden, undurchsichtigen Kuchen. Derselbe wird in warmem Alkohol gelöst, die Lösung mit Aether gefällt. Es bildet sich ein voluminöser Niederschlag, der durch Waschen mit Aether vom überschüssigen Anhydrid befreit wird. Wird derselbe in siedendem Wasser gelöst, so scheidet er sich beim Erkalten in Form dünner, glänzender, centimeterlanger, zuweilen büschel-

förmig gruppirter Nadeln ab. Der Schmelzpunkt des Benzoyladenins liegt bei 234—235°.

1. 0,2149 gr. Substanz gaben 0,4726 gr. $CO_2$ und 0,0748 gr. $H_2O$.
2. 0,2121 gr. gaben 55,0 cbcm. Stickstoff bei 21,5° und 763 mm. Bar.

| | Berechnet für $C_5H_4N_5 . CO . C_6H_5$: | Gefunden: I. | II. |
|---|---|---|---|
| $C_{12}$ | 60,25 | 59,97 | — |
| $H_9$ | 3,76 | 3,87 | — |
| $N_5$ | 29,29 | — | 29,56 |
| O | 6,69 | — | — |

Das Benzoyladenin löst sich ziemlich leicht in heissem Alkohol und fällt beim Erkalten krystallisch aus. Es löst sich ferner in verdünnten Säuren und in Ammoniak. Mit ammoniakalischer Silberlösung giebt es einen dem Adeninsilber ähnlichen Niederschlag, der sich in Ammoniak leichter löst als dieses. Es ist ein ziemlich beständiger Körper, beim Kochen mit Salzsäure wird es nur langsam zersetzt. Bei stundenlangem Kochen mit Wasser wird es in Adenin und Benzoësäure umgewandelt.

## Einwirkung spaltender, oxydirender und reducirender Mittel auf das Adenin.

Das Adenin ist sehr widerstandsfähig gegen die Einwirkung von Säuren und Alkalien und ebenso gegen Oxydationsmittel.

Man kann das Adenin stundenlang mit Barytwasser, mit Kalilauge oder mit Salzsäure kochen, ohne dass es angegriffen wird. Bei einer 100° übersteigenden Temperatur erfolgt eine völlige Zersetzung unter Bildung von Kohlensäure und Ammoniak. Letzteres ist der Fall, wenn Adenin mit verdünnter Salzsäure oder mit concentrirter Jodwasserstoffsäure im geschlossenen Rohr erhitzt wird. Dass durch schmelzendes Kali bei 200° Cyankalium gebildet wird, habe ich schon in meiner früheren Mittheilung angegeben. Oxydationsversuche mit übermangansaurem Kali wurden in mannigfacher Variation angestellt. War die Oxydationswirkung schwach, so blieb das Adenin unverändert, stärkere Einwirkung führte

zu völliger Zersetzung. Aehnlich verhielt sich das Benzoyladenin. Bromwasser ruft in wässeriger Lösung des Adenins Niederschläge von schmierigen Substanzen hervor. Die betreffenden Producte geben mit Kali und Ammoniak zum Theil schön rothe oder violette Färbung. Natriumamalgam wirkt auf die Base entweder nur sehr langsam oder gar nicht ein, ebenso wenig führt das Kochen mit Zinnchlorür zu einem Resultat.

Wenn man das Adenin in verdünnter Salzsäure löst und zu der stark sauren Flüssigkeit metallisches Zink hinzufügt, so wird die Base durch die Wirkung des nascirenden Wasserstoffs in der Kälte langsam, bei Siedetemperatur schnell zersetzt. Das zunächst entstehende Reductionsproduct ist sehr wenig beständig und konnte nicht isolirt werden. In alkalischer oder neutraler Lösung und bei Gegenwart von Sauerstoff nimmt die Flüssigkeit eine rothe Farbe an, später bildet sich ein braunrother Niederschlag. Man kann sich leicht davon überzeugen, dass die Braunfärbung von der Oberfläche der Flüssigkeit ausgeht, dass Schütteln die Entwicklung derselben beschleunigt, dass reducirende Substanzen, z. B. schweflige Säure, die Bildung derselben verhindern. Es ist demnach nicht zweifelhaft, dass der braune Körper seine Entstehung einem secundären Oxydationsprocess verdankt. Durch Zink und Salzsäure wird die Braunfärbung, nachdem sie bereits entstanden, wieder zum Verschwinden gebracht.

Zur Untersuchung der braunen Substanz wurde folgendes Verfahren angewandt. 2 gr. Adenin wurden mit Zink und Salzsäure auf dem Wasserbade erwärmt, bis das Adenin durch Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung nicht mehr nachweisbar war. Das Zink wurde dann durch Natriumcarbonat gefällt, mit dem Zinkcarbonat fiel die braunrothe Substanz. Da sich dieselbe durch Lösungsmittel dem Zinkniederschlag nicht entziehen liess, so wurde der letztere in Salzsäure unter Vermeidung eines Ueberschusses gelöst und die Lösung auf dem Wasserbade langsam eingedampft. Allmählich schieden sich beträchtliche Mengen braunrother Flocken ab. Die Flüssigkeit blieb jetzt bei gewöhnlicher Temperatur

längere Zeit stehen, dann wurde filtrirt und der Niederschlag mit Wasser völlig ausgewaschen. Die schwarze Masse schrumpfte beim Trocknen sehr zusammen, ihr Gewicht betrug 0,8 gr. Sie löst sich in concentrirten Säuren leicht auf, die Lösungen schillern grün und braun. Auch in Ammoniak und in den fixen Alkalien ist sie leicht löslich. Es ist mir nicht gelungen, dies Product als chemisches Individuum zu charakterisiren oder aus demselben eine Substanz zu isoliren, welche die Garantie für eine einheitliche Zusammensetzung böte. Demgemäss ist die weitere Untersuchung derselben vom rein chemischen Standpunkt aus nicht von wesentlichem Interesse. Die Substanz wurde trotzdem analysirt, weil die genannte Umwandlung des Adenins sehr wichtig erscheint, wenn man die physiologischen Beziehungen dieses Körpers in Betracht zieht.

Bei der Verbrennung des Products ergab sich, dass dasselbe eine beträchtliche Menge Sauerstoff enthält. Die Bildung desselben erfolgt unter Sauerstoffaufnahme und wahrscheinlich gleichzeitiger Kohlenstoffabgabe, anscheinend entstehen nach einander verschiedene Producte. Die Analyse eines derartigen Präparates ergab:

| | |
|---|---|
| C | 33,03 % |
| H | 3,74 » |
| N | 47,00 » |
| O | 16,23 » |

Eine zweite Substanz lieferte:

| | |
|---|---|
| C | 28,78 % |
| H | 3,80 » |

Es liegt nahe, den vorliegenden Körper mit der Azulminsäure, dem Product, welches bei der Polymerisation der Blausäure entsteht, zu identificiren. Bekanntlich haben die Analysen der Azulminsäure, die von verschiedenen Forschern ausgeführt wurden, durchaus nicht zu übereinstimmenden Resultaten geführt. Es lassen sich unter den Angaben Zahlen finden, welche den von mir gefundenen nahe stehen. Auch die Eigenschaften des von mir erhaltenen Körpers stimmen mit denen der Azulminsäure überein. Es ist demnach höchst wahrscheinlich, dass die beiden Substanzen identisch sind. Durch den Reductionsversuch ist ein weiterer Beweis für die

Verwandtschaft des Adenins mit den Cyanverbindungen gegeben, falls es überhaupt noch eines derartigen Beweises bedürfte.

Um auf die Bedeutung hinzuweisen, welche der beschriebenen Einwirkung des nascirenden Wasserstoffs von physiologischen Gesichtspunkten aus beigemessen werden kann, möchte ich zunächst an die Entstehung des Adenins aus dem Nucleïn und der Substanz des Zellkerns erinnern. Die einzige Andeutung über die physiologische Rolle des Zellkerns, welche wir besitzen, ist die Erkenntniss, dass die Function dieses Organs mit den Processen der Neubildung organischer Substanz in Beziehung steht. Das beweisen insbesondere die interessanten Theilungsversuche, welche Nussbaum[1]), Gruber[2]) und Klebs[3]) an der Zelle ausgeführt haben und welche zeigen, dass die Zelle ohne Kern zwar lebensfähig, aber nicht regenerationsfähig ist. Durch die neueren Untersuchungen von Zacharias[4]) über die Befruchtung wird eben dieselbe Bedeutung speciell dem Nucleïn, der Muttersubstanz des Adenins, zugewiesen. Da das Adenin neben dem Guanin der einzige charakteristische Atomcomplex ist, den man bei der Spaltung des Nucleïns erhält, so wird man zu der Annahme gedrängt, dass diese Basen für die physiologische Rolle des Kerns irgend eine wichtige Bedeutung haben.

Wenn man dem Adenin eine Function zuschreiben will, welche der eben erörterten Function des Zellkerns entspricht, so muss man zunächst beweisen, dass diese Substanz unter Bedingungen, die im Organismus möglich sind, in einen sehr reactionsfähigen Körper übergehen kann. Diesen Beweis habe ich durch meine Versuche geliefert. Die Bedingungen für kräftige Reductionsprocesse sind bekanntlich in jeder Zelle gegeben. Die Reduction giebt einen Anstoss, durch welchen das sauerstofffreie Adenin in einen Körper umgewandelt wird, der mit Begierde Sauerstoff aufnimmt und sich ausserhalb

---

[1]) Archiv f. mikroskop. Anatomie, Bd. XXVI (1886).
[2]) Biolog. Centralblatt, Bd. IV, V (1885, 1886).
[3]) Biolog. Centralblatt, Bd. VII (1887), S. 161—168.
[4]) Botan. Ztg., 1887, No. 18—24.

des Organismus wahrscheinlich durch gleichzeitige Zusammenlagerung mehrerer Moleküle in Azulminsäure verwandelt. Es ist nicht zu bezweifeln, dass ein mit so kräftigen Affinitäten ausgestattetes Zwischenproduct, wenn es innerhalb der Zelle entsteht, der Vermittler wichtiger physiologisch-chemischer Processe, insbesondere synthetischer Art, sein kann.

Ich muss auch in dieser Abhandlung darauf hinweisen, dass Pflüger von theoretischen Gesichtspunkten aus zu Anschauungen bezüglich der physiologischen Rolle der Cyanverbindungen gelangt ist, welche in einzelnen Punkten mit den von mir erörterten Thatsachen übereinstimmen[1]). Unter den Eigenschaften, welche die Cyanverbindungen nach Pflüger's Ansichten zu physiologisch wichtigen Actionen befähigen, hebt dieser Forscher insbesondere die Neigung zur Polymerisation hervor.

Die Einwirkung des Zinks in salzsaurer Lösung kann auch zur Erkennung des Adenins dienen. Die zu prüfende Substanz wird in einem Reagensglas eine halbe Stunde mit Zink und Salzsäure im Wasserbade digerirt, die filtrirte Flüssigkeit mit Natronlauge stark alkalisch gemacht. Es stellt sich beim Stehen an der Luft langsam eine anfangs rubinrothe, später braunrothe Färbung ein, schneller erfolgt diese Färbung beim Schütteln. Hypoxanthin giebt dieselbe Reaction, Guanin und Caffeïn geben dieselbe nicht.

Einzelne Thatsachen zeigen, dass es im Organismus unter pathologischen Verhältnissen zur Anhäufung von Adenin oder dem Adenin nahestehenden Substanzen kommen kann. Ich habe bereits den Befund Stadthagen's erwähnt, welcher das Adenin im Harn eines leukämischen Individuums auffand. Von Wichtigkeit für diese Frage ist auch eine Beobachtung Naunyn's[2]). Dieser Forscher fand in reichlicher Menge in einem aus der Pleurahöhle entleerten Eiter eine Substanz, welche entweder Adenin oder Guanin war. Es ist voraus-

---

1) Archiv f. d. ges. Physiologie, Bd. 10, S. 300—345.

2) Reichert's und du Bois-Reymond's Archiv, Jahrgang 1865, Heft 2.

zusetzen, dass diese Basen in den Fällen in vermehrter Menge entstehen, wo eine vermehrte Bildung solcher kernhaltigen Zellen stattfindet, deren Ernährungsverhältnisse ungünstige sind und die desswegen später wieder zu Grunde gehen. Von diesen Gesichtspunkten aus ist die Untersuchung des Verhaltens vom Adenin im Thierkörper von hohem Werth. Während es mir bisher nicht gelungen ist, die Frage nach der Giftwirkung der Base mit voller Sicherheit klarzulegen, konnte ich durch Fütterungsversuche constatiren, dass das Adenin den Körper des Hundes theilweise unzersetzt verlässt. Ich konnte dasselbe mit Entschiedenheit nachweisen im Harn eines Thieres, dem ich 0,7 gr. salzsaures Adenin per os gegeben hatte; aus dem Harn eines anderen Hundes, dem 1,0 gr. salzsaures Adenin durch die Schlundsonde beigebracht war, erhielt ich nach 24 Stunden 0,1390 gr. in Form des salpetersauren Salzes in völlig reinem Zustand.

Zum Schluss erfülle ich eine angenehme Pflicht, indem ich Herrn Dr. Oscar Schultz, dessen werthvolle Hülfe ich bei diesen Untersuchungen genoss, meinen besten Dank ausspreche.

# Zur Kenntniss der schwefelhaltigen Verbindungen des Harns.

Von

**E. Goldmann** und **E. Baumann.**

(Der Redaction zugegangen am 14. Januar 1888.)

Die Frage, ob der normale Harn Cystin oder diesem ähnliche Körper enthalte, ist öfters behandelt und neuerdings von Stadthagen[1]) einer eingehenden Prüfung unterzogen worden, welche zu dem Ergebniss geführt hat, dass derartige Stoffe im normalen Harn gar nicht oder in äusserst minimalen Mengen vorkommen.

Stadthagen benützte die Zersetzung des Cystins beim Kochen mit Bleilösung und Alkali, zerlegte das hierbei gebildete Schwefelblei mit Salzsäure und bestimmte die Menge des entbundenen Schwefelwasserstoffs durch Einleiten in eine Silberlösung. Bei 12 Versuchen erhielt Stadthagen aus einem Liter Harn im Mittel nur 0,3 Milligramm Schwefel, welcher beim Kochen des Harns mit Bleilösung und Kalilauge in Bleisulfid übergeführt worden war.

Die Arbeit Stadthagen's schien durch die sorgfältige Ausführung der Versuche und Beobachtungen die aufgeworfene Frage endgiltig zu entscheiden, und wir hätten nicht daran gedacht, dieselbe von Neuem zu bearbeiten, wenn nicht eine gelegentliche Beobachtung uns eine directe Veranlassung dazu geboten hätte.

Wenn man eine Lösung von Cystin in Natronlauge mit einigen Tropfen Benzoylchlorid schüttelt, so entsteht in dem

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 131 ff.

Maasse, als das Benzoylchlorid verschwindet, ein sehr voluminöser Niederschlag von seidenglänzenden Blättchen eines Natriumsalzes des Benzoylcystins $C_6H_{10}N_2S_2O_4(C_7H_5O)_2$. Dieses Salz ist schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser löslich; in überschüssiger Natronlauge ist es fast unlöslich.

Wenn man zu der verdünnten Lösung dieses Salzes eine stärkere Säure hinzufügt, so erstarrt die Flüssigkeit meist zu einer durchscheinenden Gallerte, aus welcher beim Erwärmen oder beim Stehen die freie Säure allmälig in dichteren Flocken abgeschieden wird, so dass man dieselbe abfiltriren kann.

Das Benzoylcystin ist eine starke Säure, in Wasser so gut wie unlöslich; in reinem Aether löst sie sich wenig, leichter in alkoholhaltigem Aether und noch leichter in Alkohol. Aus der alkoholischen Lösung krystallisirt es in feinen Nadeln, welche zu blumenkohlartigen Massen vereinigt sind. Es schmilzt bei 156—158°. Beim Kochen mit starker Salzsäure wird es in Benzoesäure und Cystin allmälig gespalten.

Die Analyse der trockenen Substanz ergab Werthe, welche der Formel des Benzoylcystins entsprechen.

| | | Berechnet für $C_{20}H_{20}S_2N_2O_6$: | | Gefunden: |
|---|---|---|---|---|
| $C_{20}$ | = | 240 | 53,57 % | 53,4 %. |
| $H_{20}$ | = | 20 | 4,46 » | 4,74 » |
| $S_2$ | = | 64 | 14,28 » | — » |
| $N_2$ | = | 28 | 6,25 » | 6,05 » |
| $O_6$ | = | 96 | 21,43 » | — » |
| | | 448 | 99,99. | |

Wenn das Cystin, wie es in hohem Grade wahrscheinlich ist, das Disulfid der α-Amidothiomilchsäure ($CH_3 - C\begin{matrix}NH_2\\SH\end{matrix} - COOH$) darstellt, so kommt dem Benzoylcystin die folgende Formel zu:

$$\begin{matrix}(C_6H_5CO -)\,NH \\ S\end{matrix} > C < \begin{matrix}CH_3 \\ COOH\end{matrix}$$
$$\begin{matrix}S \\ (C_6H_5CO) - NH\end{matrix} > C < \begin{matrix}CH_3 \\ COOH\end{matrix}.$$

Die Ausbeute an Benzoylcystin ist eine sehr gute; aus 1 gr. reinem Cystin wurden beim Schütteln der verdünnten alkalischen Lösung mit 10 cbcm. Benzoylchlorid 1,7 gr. Benzoylcystin erhalten, während die Theorie 1,86 gr. erwarten lässt.

Beim Kochen mit Alkalien wird das Benzoylcystin, unter Abspaltung von Schwefel, zersetzt wie das Cystin. Zur Beendigung dieser Zersetzung ist indessen mehrstündiges Erwärmen auf 100° erforderlich.

Der Umstand, dass das Benzoylcystin aus wässerigen Flüssigkeiten leicht durch Aether aufgenommen und dadurch von den übrigen Harnbestandtheilen getrennt werden kann, liess diesen Körper für den Nachweis kleiner Mengen von Cystin im Harn besonders geeignet erscheinen.

Zunächst wurde ein Vorversuch gemacht, bei dem 10 Milligramm Benzoylcystin zu 100 cbcm. frischen Urines zugesetzt wurden. Nach starkem Ansäuern wurde die Flüssigkeit mit gewöhnlichem Aether wiederholt ausgeschüttelt. Der nach dem Abdestilliren des Aethers erhaltene Rückstand wurde in Natronlauge aufgenommen, mit Bleilösung versetzt und gekocht, dabei bildete sich nach kurzer Zeit ein allmälig sich vermehrender Niederschlag von Schwefelblei. Bei einem zweiten Versuche wurden 0,010 gr. Cystin, in einigen Tropfen verdünnter Natronlauge gelöst, zu 100 cbcm. frischen Harnes hinzugesetzt und letzterer in folgender Weise weiter behandelt: Der Harn wurde mit 10 cbcm. Benzoylchlorid und 70 cbcm. Natronlauge von 1,12 spec. Gew. so lange geschüttelt, bis der Geruch des Benzoylchlorids verschwunden war. Die vom Niederschlage (Benzoylverbindungen der Kohlehydrate des Harns nebst geringen Mengen von Phosphaten) abfiltrirte alkalische Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit (alkoholhaltigem) Aether ausgeschüttelt. Der nach Abdestilliren des Aethers gewonnene Rückstand, welcher hauptsächlich aus Benzoesäure bestand, aber auch das gebildete Benzoylcystin enthielt, wurde mit Natronlauge und einigen Tropfen Bleiacetat einige Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Das hierbei gebildete Schwefelblei wurde mit Wasser, verdünnter Essigsäure und schliesslich mit Alkohol

ausgewaschen; sein Gewicht betrug 0,0135 gr. PbS entspr. 0,00655 gr. Cystin.

Als normaler Harn in gleicher Weise mit Benzoylchlorid und Natronlauge behandelt und weiter verarbeitet wurde, lieferte der Aetherextract ausnahmslos Niederschläge von Schwefelblei, dessen Menge allerdings sehr wechselt, aber doch wesentlich mehr beträgt, als Stadthagen bei seinen Versuchen im Mittel gefunden hat. So lieferte beispielsweise ein normaler Harn aus 200 cbcm. 0,0025 gr. Schwefelblei. In der Regel genügen 200 cbcm. Harn für diesen Nachweis. Mitunter ist die Menge des erzielten Schwefelbleis erheblich geringer als in dem angeführten Beispiele, bisweilen aber erhält man auch grössere Mengen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass jedenfalls nicht die ganze Menge des Cystins oder des cystinähnlichen Körpers zum Nachweis gelangt. Eine genaue quantitative Bestimmung dieses Körpers ist mit der vorliegenden Methode — vorläufig wenigstens — nicht ausführbar. Der qualitative Nachweis — wenn auch geringer Mengen — von Cystin oder einem ähnlichen Körper im Harn ist aber immerhin von einer principiellen Wichtigkeit.

Bei der wiederholten Prüfung des normalen Harns musste es des Oefteren auffallen, dass bei der von uns befolgten Untersuchungsmethode durchschnittlich mehr Schwefelblei aus dem Harn gewonnen wurde, als Stadthagen erhalten hatte, obschon dieselbe nur einen Theil des vorhandenen Cystins nachweisen liess.

Eine Erklärung dieses Umstandes ergab sich aus der genaueren Untersuchung des Verhaltens von Cystin gegen alkalische Bleilösung. Man glaubte bisher allgemein, dass das Cystin seinen Schwefel beim Erhitzen mit Alkalien leicht und vollständig abgebe. Nur das Erstere ist richtig: schon beim schwachen Erwärmen von Cystin mit Bleioxyd und Natronlauge tritt bekanntlich die Abscheidung von Schwefelblei ein; filtrirt man nach einiger Zeit vom Schwefelblei ab und kocht die gelbgefärbte Lösung von Neuem, so entsteht wieder Schwefelblei, und diesen Versuch kann man noch oftmals wiederholen. Um in den quantitativen Verlauf dieser

Abspaltung einen Einblick zu gewinnen, wurden 0,387 gr. reines Cystin mit 100 cbcm. reiner Natronlauge von 1,12 spec. Gew. und 10 cbcm. Bleiacetatlösung in einem Kolben im siedenden Wasserbade erhitzt. Nach wenigen Minuten hatte sich ein reichlicher Niederschlag von Schwefelblei gebildet. Nach 2stündigem Erwärmen wurde das gebildete Schwefelblei abfiltrirt, getrocknet und gewogen. Seine Menge betrug 0,310 gr. Das Filtrat gab bei weiterem Erwärmen bald wieder einen Niederschlag von Schwefelblei, dessen Gewicht nach 3 Stunden 0,142 gr. ausmachte. Das Filtrat dieses Niederschlags trübte sich bei weiterem Kochen erst nach einiger Zeit, lieferte aber nach 4stündigem Erhitzen wieder eine Quantität von 0,0725 gr. Schwefelblei. Das fast farblose Filtrat dieses Niederschlages blieb beim Kochen über freiem Feuer längere Zeit klar, erst nach einer Viertelstunde stellte sich wieder eine geringe Trübung und schliesslich ein kleiner Niederschlag von Schwefelblei ein. Das Filtrat dieser Abscheidung gab nach dem Eindampfen und Erhitzen mit Salpeter eine sehr bemerkbare Schwefelsäurereaction.

Nach 9stündigem Erhitzen mit alkalischer Bleilösung hatten also 0,387 gr. Cystin nicht mehr als in Summa 0,5245 gr. Schwefelblei geliefert, während eine glatte und vollkommene Abspaltung des Schwefels 0,767 gr. Schwefelblei hätte liefern müssen.

Die langsame Abspaltung des Schwefels war uns zuerst beim Kochen des Benzoylcystins mit alkalischer Bleilösung aufgefallen; der quantitative Verlauf kann hier natürlich kein wesentlich anderer sein als beim Cystin selbst, und hieraus ist die Differenz der Beobachtungen von Stadthagen und von uns nicht zu erklären. Der Grund derselben ergibt sich vielmehr aus dem Umstande, dass eine Lösung von Cystin im Harn noch wesentlich langsamer und unvollkommener seinen Schwefel beim Kochen mit Alkali abgibt, als eine reine Cystinlösung.

In 700 cbcm. frischem Harn wurden unter Zusatz einer geringen Menge Salzsäure 0,5 gr. Cystin gelöst; 200 cbcm. dieses Harns, welche also 0,143 gr. Cystin enthielten, wurden

mit 200 cbcm. Natronlauge und etwas Bleilösung 5 Stunden lang auf 100° erwärmt; nach 5 Stunden wurde der Niederschlag abfiltrirt, mit dem Filter in einen Kolben gebracht, in letzterem durch verdünnte Salzsäure zerlegt, der entwickelte Schwefelwasserstoff wurde unter Erwärmen und Durchleiten von Kohlensäure vollständig in eine mit Essigsäure stark angesäuerte Bleilösung geleitet; das so gewonnene Schwefelblei wurde auf getrocknetem Filter gesammelt, mit Wasser und zuletzt mit Alkohol gewaschen, getrocknet[1]) und gewogen. Seine Menge betrug 0,103 gr. Die völlige Abspaltung des Schwefels hätte 0,2837 gr. Schwefelblei liefern müssen. Ein zweiter Versuch, bei welchem 200 cbcm. Harn mit 0,141 gr. Cystin mit 200 cbcm. concentrirter Natronlauge und etwas Bleilösung 8 Stunden lang auf 100° erwärmt wurden, lieferte nach derselben Methode 0,090 gr. Schwefelblei, während bei völliger Abspaltung des Schwefels 0,277 gr. Schwefelblei zu erwarten waren.

Wir haben uns durch einen Controlversuch vergewissert, dass die von uns benützte Zersetzung des aus dem Harn abgeschiedenen Schwefelbleis durch Salzsäure und Uebertreiben des entwickelten Schwefelwasserstoffs in eine vorgelegte Bleilösung keine oder keinen, irgend in Betracht zu ziehenden Verlust an Schwefel bedingt. 0,095 gr. Schwefelblei, welches durch Zersetzung von Benzoylcystin mit alkalischer Bleilösung gewonnen war, wurden in derselben Weise und mit dem gleichen Apparate, welcher zu den vorher beschriebenen Versuchen benützt worden war, mit verdünnter Salzsäure in der Wärme zerlegt; der entwickelte Schwefelwasserstoff wurde in eine Bleilösung geleitet und der wieder erzeugte Niederschlag von Schwefelblei auf getrocknetem Filter gesammelt und gewogen; seine Menge betrug 0,0941 gr. Schwefelblei.

---

[1]) Das Trocknen wurde nie länger als 20 bis 30 Minuten fortgesetzt, um Oxydationen des Schwefelbleis zu vermeiden. Controlwägungen zeigten indessen, dass diese Gefahr unter den vorliegenden Verhältnissen gar nicht in Betracht kommt.

Aus dem Mitgetheilten geht hervor:

1. Im normalen Harn sind geringe Mengen von Cystin oder einem dem Cystin sehr ähnlichen Körper enthalten.

2. Durch Kochen einer alkalischen Lösung von Cystin wird der Schwefel des Cystins langsam und unvollkommen abgespalten.

3. Diese Zersetzung des Cystins ist noch weniger vollständig, wenn cystinhaltiger Harn mit alkalischer Bleilösung erhitzt wird.

Ueber die Quantitäten des Cystins im normalen Harn haben wir keine genaueren Angaben gemacht, weil die Methode zur quantitativen Bestimmung desselben nicht verlässlich genug erscheint. Immerhin können dieselben nicht so bedeutend sein, dass sie einen erheblichen Theil der nicht in Form von Schwefelsäure vorhandenen Schwefelverbindungen ausmachten. In diesem Punkte werden also die Schlussfolgerungen Stadthagen's durch unsere Versuche kaum alterirt.

Im Hundeharn kann man gleichfalls mit der Benzoylchloridreaction das Vorhandensein von Cystin oder cystinähnlichen Körpern nachweisen. Hierbei ist aber erforderlich, dass der zu untersuchende Harn vor der Behandlung mit Natronlauge und Benzoylchlorid von der unterschwefligen Säure befreit wird — durch Stehenlassen oder Verdunsten des angesäuerten Harns und Filtriren. Wir haben uns überzeugt, dass bei der Phosphorvergiftung beim Hunde die Ausscheidung der genannten schwefelhaltigen Substanz erheblich gesteigert wird; 100 cbcm. Harn des mit Phosphor vergifteten Thieres lieferten bei der Benzoylchloridbehandlung 0,011 gr. Schwefelblei, während 100 cbcm. des normalen Hundeharns nur 0,002 gr. Schwefelblei ergaben.

---

Die Widersprüche in den Angaben über die Abspaltung des Schwefels aus dem Cystin legten den Gedanken nahe, dass es verschiedene vielleicht isomere Cystine gäbe, welche in dieser Hinsicht sich ungleich verhielten. Es standen uns Cystinproben von 3 verschiedenen Provenienzen zu Gebote:

die qualitative Prüfung derselben ergab indessen, dass dieselben beim Kochen mit alkalischer Bleilösung sich ganz gleich, wie oben beschrieben wurde, verhielten.

Wir haben auch nicht unterlassen, von demselben Cystin, welches bei unseren Versuchen verwendet wurde, durch die Analyse die Reinheit des Präparates zu controliren:

0,203 gr. desselben gaben bei der Schwefelbestimmung 0,3915 gr. $BaSO_4$ = 26,49 % Schwefel.

0,2425 gr. Substanz gaben 0,2695 gr. $CO_2$ = 30,31 % Kohlenstoff und 0,1142 gr. $H_2O$ = 5,18 % Wasserstoff.

0,212 gr. Substanz lieferten 21,5 cbcm. Stickstoff bei 17° und 751 mm. Druck = 11,63 %.

Aus der Vergleichung dieser Werthe mit den von der Formel des Cystin geforderten erhellt, dass reines Cystin vorlag.

| | Berechnet für $C_6H_{12}N_2S_2O_4$: | Gefunden: |
|---|---|---|
| C | 30,00 % | 30,31 %. |
| H | 5,00 » | 5,18 » |
| N | 11,66 » | 11,63 » |
| S | 26,66 » | 26,49 » |

Dass die Schwefelabspaltung aus dem Cystin bei der Einwirkung von Alkalien langsamer erfolgt, als die Mercaptanbildung aus den dem Cystin nahe verwandten Mercaptursäuren, hat der Eine von uns schon früher[1]) beobachtet. Die Thatsache, dass das Cystin in dieser Hinsicht eine noch viel weitergehende Verschiedenheit von den Mercaptursäuren zeigt, als bisher bekannt war, findet eine, wie es scheint, einfache Erklärung in dem Umstande, dass in dem Cystin ein Theil des Schwefels durch secundäre Reactionen in die feste Bindung mit 2 Kohlenstoffatomen eintreten kann. Behandelt man Brenztraubensäure, welcher ein Körnchen Chlorzink zugesetzt ist, mit Schwefelwasserstoff und erhitzt das Reactionsproduct mit alkalischer Bleilösung, so wird auch hier ein Theil des gebundenen Schwefels alsbald, ein anderer Theil sehr allmälig abgespalten, so dass man stundenlang erhitzen muss, bis die allmälig geringer werdende Abscheidung von Schwefelblei ganz aufhört.

1) Baumann, Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. 15, S. 1734.

## Notiz über die Darstellung und die Zusammensetzung der Cholsäure.

Von

**F. Mylius.**

(Der Redaction zugegangen am 14. Januar 1888.)

Die Cholsäure würde gewiss öfters Gegenstand chemischer Untersuchungen geworden sein, wenn nicht die Meinung verbreitet wäre, ihre Darstellung sei eine besonders schwierige. Und doch giebt es wenige Producte des thierischen Stoffwechsels, welche mit einer solchen Leichtigkeit im Zustande der Reinheit und in beliebig grossen Mengen gewonnen werden können, wie die Cholsäure. Es sind eine ganze Anzahl von Vorschriften zu ihrer Darstellung vorhanden. Das Material zu meinen Untersuchungen ist nach einer combinirten Methode gewonnen worden, welche nichts Originelles enthält und gewiss auch von manchen anderen Chemikern ausgeübt worden ist. Gleichwohl erscheint es mir nützlich, das Verfahren mit einigen Worten zu kennzeichnen, da seit der Auffindung der Choleïnsäure durch Latschinoff eine Auswahl unter den vorhandenen Vorschriften geboten ist. Im Folgenden ist die Darstellung der Cholsäure beschrieben, wie sie sich mir nach einer längeren Beschäftigung mit dem Gegenstande als tauglich erwiesen hat:

Frische Rindergalle wird mit dem fünften Theil ihres Gewichtes an 30procentiger Natronlauge 24 Stunden lang in eisernem Gefässe gekocht, wobei das verdampfende Wasser zu erneuern ist. Man kann dann sicher sein, dass die gepaarten Gallensäuren vollständig zersetzt sind. Die alkalische

Flüssigkeit wird darauf mit Kohlensäure gesättigt und fast bis zur Trockne verdampft. Die zurückbleibende Masse behandelt man mit starkem Alkohol. Hierbei geht das cholsaure Natrium in die Lösung, während der Ueberschuss des Natrons als Carbonat zurückbleibt. Zugleich findet auch eine Trennung von dem in der Galle stets enthaltenen Schleim statt, welcher ebenfalls in Alkohol unlöslich ist. Das alkoholische Filtrat enthält jedoch ausser der Cholsäure noch die Choleïnsäure, sowie Fettsäuren, von denen namentlich Stearinsäure in Betracht kommt. Die Abscheidung dieser Stoffe geschieht am zweckmässigsten durch Ueberführung in die Baryumsalze. Choleïnsaures und stearinsaures Baryum sind in Wasser unlöslich, während sich das Baryumsalz der Cholsäure schon in 30 Theilen kalten Wassers löst. Zur Ausführung der Trennung wird die alkoholische Lösung so weit mit Wasser verdünnt, dass die Mischung höchstens 20% Alkohol enthält[1]); darauf versetzt man sie mit einer verdünnten Chlorbaryumlösung, so lange noch die Abscheidung eines Niederschlages bemerkbar ist. Es erfolgt nun eine Filtration, welche schnell von Statten geht, denn die unlöslichen Baryumsalze senken sich leicht zu Boden. Das Filtrat darf durch weiteren Zusatz von Chlorbaryumlösung nicht getrübt werden. Durch Zufügen von Salzsäure wird nun die Cholsäure im gereinigten Zustande gefällt. Die zähe Masse nimmt gewöhnlich nach wenigen Stunden krystallisches Gefüge an, enthält jedoch noch amorphe, gefärbte und riechende Bestandtheile und bedarf darum noch weiterer Reinigung. Dieselbe geschieht am besten durch Umkrystallisiren aus Alkohol. Man hat sich zu erinnern, dass hierbei die Cholsäure in die Verbindung $C_{24}H_{40}O_5$, $C_2H_6O$ übergeführt wird, deren Schwerlöslichkeit und Krystallisationsfähigkeit die Rein-

---

[1]) Hier sollten eigentlich absolute Mengen angegeben werden; es kommt aber wenig in Betracht, ob die Menge des zugefügten Wassers gross oder klein ist, wenn nur das cholsaure Baryum gelöst bleibt. Man kann auch aus der mit Natronlauge gekochten Galle die Cholsäure mit Salzsäure fällen und sie behufs der Ueberführung in das Baryumsalz in verdünntem Ammoniak lösen; die Fällung erfolgt dann ebenfalls mit Chlorbaryumlösung; ich ziehe jedoch das oben beschriebene Verfahren vor.

darstellung der Cholsäure ermöglicht. Da die Verbindung sich jedoch mit Wasser zersetzt, so kommt es darauf an, die Gegenwart von Wasser zu vermeiden und als Lösungsmittel womöglich absoluten Alkohol zu benützen; im anderen Falle wird die Ausbeute an Krystallen stark beeinträchtigt.

Um die ausgefällte Cholsäure von dem anhaftenden Wasser zu befreien, empfiehlt es sich, dieselbe in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade mit ein wenig Alkohol zu durchkneten. Der Alkohol wird dabei sogleich gebunden. An seiner Stelle erscheint in der zähen Masse eine Wasserlache, welche man leicht durch Abgiessen entfernen kann. Man wiederholt die Operation mit neuen Mengen Alkohol, bis keine Abscheidung von Wasser mehr erfolgt. Gewöhnlich hat die Massse inzwischen krystallisch-bröckelige Beschaffenheit angenommen; man löst sie jetzt im Kolben in einer möglichst geringen Menge absoluten Alkohols und lässt die filtrirte Lösung im Becherglase erkalten. Aus dem entstandenen Krystallbrei wird mit Hilfe der Saugpumpe die Mutterlauge entfernt; sie ist immer braun und viscos und enthält noch grosse Mengen von Cholsäure; ich habe jedoch nie versucht, sie darauf weiter zu verarbeiten. Ob ausser der gewöhnlichen Cholsäure vielleicht noch eine andere Cholsäure, welche kein krystallisirbares Alkoholat liefert, darin vorhanden ist, habe ich nicht feststellen können; unmöglich erscheint es mir nicht. Man erhält gewöhnlich etwa ebenso viel krystallisirtes Alkoholat als feste Substanz in der Mutterlauge, bisweilen auch noch mehr. Das abfiltrirte und durch Auswaschen mit Alkohol gereinigte Cholsäure-Alkoholat muss, obwohl schon nahezu farblos, für die meisten Zwecke noch ein- oder zweimal umkrystallisirt werden. Es ist dazu immer eine grössere Menge Alkohol erforderlich, als zur Lösung der rohen Cholsäure nöthig war. Je verdünnter die gesättigte Lösung ist (also je reiner die Cholsäure), um so grössere Tetraeder erhält man bei langsamem Erkalten.

Aus reineren Mutterlaugen lässt sich leicht die darin enthaltene Cholsäure durch Eindampfen in krystallischer Beschaffenheit wiedergewinnen.

---

Die Meinungsverschiedenheit der Chemiker über die Zusammensetzung der Cholsäure ist seit kurzer Zeit in eine neue Phase getreten. Die Formel $C_{25}H_{40}O_5$, welche hier und da anstatt der bewährten Formel von Strecker, $C_{24}H_{40}O_5$, gebraucht worden ist, hat man aufgegeben. An ihrer Stelle ist von Latschinoff[1]) der Ausdruck $C_{25}H_{42}O_5$ vorgeschlagen und gegen die von Strecker angenommene Zusammensetzung der Cholsäure vertheidigt worden.

Bei den Untersuchungen, welche ich über die Cholsäure mitgetheilt habe, ist die Strecker'sche Schreibweise zur Anwendung gelangt. Ich habe auch nicht versäumt, eine Reihe von Analysen aufzuführen[2]), welche diese Schreibweise begründet erscheinen lassen. Indessen ist die Feststellung der empirischen Zusammensetzung der Cholsäure doch zu schwierig, als dass ich glauben sollte, sie sei durch die von mir ausgeführten Analysen endgiltig herbeigeführt. Voraussichtlich wird sich der Streit um die Zusammensetzung der Cholsäure noch Jahre lang hinziehen; dies ist um so wahrscheinlicher, als Latschinoff in einer jüngst erschienenen Abhandlung[3]) die Formel mit 25 Kohlenstoffatomen auf's Neue zu begründen sucht. Meine gegenwärtigen Aufgaben erlauben mir nicht, mich ferner experimentell mit der Cholsäure zu beschäftigen und das bisher mitgetheilte analytische Material zu vervollständigen. Ich möchte jedoch bemerken, dass die Arbeit von Latschinoff mich keineswegs von der Unrichtigkeit der Strecker'schen Formel überzeugt. In voller Würdigung der Schwierigkeit, welche mit der Entscheidung über das Mehr oder Weniger einer Methylengruppe bei einer so hoch gegliederten Substanz wie die Cholsäure verknüpft ist, erkenne ich im Sinne meiner früher geäusserten Anschauung die Möglichkeit an, dass trotz vieler entgegenstehender Analysen die Cholsäure 25 Kohlenstoffatome enthält. Allein diese Möglichkeit scheint mir dadurch sehr verringert, dass Latschinoff nunmehr für nöthig hält, für die

---

1) P. Latschinoff, Ber. d. D. Chem. Gesellsch., Bd. XX, S. 1043.
2) F. Mylius, Ber. d. D. Chem. Gesellsch., Bd. XX, S. 1968.
3) P. Latschinoff, Ber. d. D. Chem. Gesellsch., Bd. XX, S. 3274.

Cholsäure zwei verschiedene Typen anzunehmen, deren einer durch die Formel $C_{25}H_{42}O_5 + {}^1/_8\ H_2O$ ausgedrückt wird, während der andere die Formel $C_{25}H_{42}O_5 + {}^1/_4\ H_2O$ erhält. Latschinoff fühlt sich veranlasst, dem Alkoholat der Cholsäure die Zusammensetzung $C_{25}H_{42}O_5 + {}^1/_8\ H_2O + {}^7/_8\ C_2H_6O$ und dem Phenolat die Formel $C_{25}H_{42}O_5 + {}^1/_8\ H_2O + {}^7/_8\ C_6H_6O$ zuzuschreiben. Eine thatsächliche Begründung dieser Formeln, bei deren Aufstellung man sich auf keine Analogie (etwa mit basischen Salzen oder dergl.) beziehen kann, ist von Latschinoff nicht erbracht worden.

Ich glaube mit der Ansicht nicht allein zu stehen, dass die Annahme einer partiellen Vertretung von Alkohol oder Phenol durch Wasser im Verhältniss von $^1/_8$ bezw. $^7/_8$ Moleculen nach dem, was man bis jetzt über Krystallwasser resp. Krystallalkohol weiss, nicht zulässig ist. Man könnte geneigt sein zu glauben, dass diese Annahme in dem vorliegenden Falle lediglich dazu dient, die für die Cholsäure gewählte Eormel mit dem Ausfall der Analyse in Uebereinstimmung zu setzen.

Die Analyse des Anilin- und des Toluidinsalzes der Cholsäure ist, glaube ich, für die Feststellung der Formel wenig beweiskräftig, da man umgekehrt bei derartigen Verbindungen der Analyse bedarf, ihre Einheitlichkeit zu erweisen.

Gegenüber den Anschauungen von Latschinoff möchte ich noch bemerken, dass ich das krystallisirte Cholsäurealkoholat ebenso wie die daraus gewonnene Cholsäure für eine einheitliche Substanz halte und niemals eine Andeutung darüber bemerkt habe, dass die krystallisirte Cholsäure in mehreren Modificationen auftritt.

Charlottenburg, den 10. Januar 1888.

Physik.-Techn. Reichsanstalt.

# Ueber Beziehungen der Chlorausscheidung zum Gesammtstoffwechsel[1]).

Von

**Prof. A. Kast.**

(Der Redaction zugegangen am 16. Januar 1888.)

Dass unter den Aschenbestandtheilen des Organismus gerade die Chlorverbindungen immer auf's Neue wieder die Aufmerksamkeit der Untersucher auf sich zogen, liegt wohl nicht allein an dem hervorragenden Antheil, der diesen Salzen bei der Zusammensetzung der Gewebe und Säfte zufällt, sondern auch an der weitgehenden Gesetzmässigkeit des Chlorumsatzes, welche schon durch die frühesten Untersuchungen auf diesem Gebiete klar gelegt wurde.

Sehr bald nachdem von Hegar, Bischoff u. A. die ersten quantitativen Untersuchungen über Chlorausscheidung im Harn ausgeführt worden waren, gelangten Kaupp und Voit zur Aufstellung jener eigenthümlichen Selbstregulirung der Chlorausscheidung, durch welche ein innerhalb gewisser Grenzen nahezu constanter Chlorgehalt des Blutes garantirt wird.

Ueber das genauere Geschehen, den «Mechanismus» dieser automatischen Regulirung, hat dann Forster[2]) eine etwas präcisere Vorstellung zu geben gesucht — durch seine

---

[1]) Ein vorläufiger Bericht über einzelne Ergebnisse der nachstehenden Untersuchungen wurde in der Section für innere Medicin auf der Naturforscherversammlung in Wiesbaden 1887 erstattet.

[2]) Zeitschrift für Biologie, Bd. IX, S. 297 ff.; vgl. auch hier die ältere Literatur über den Chlorstoffwechsel.

bekannte Hypothese von der Verwendung der Aschenbestandtheile im Organismus.

Forster geht von der Vorstellung aus, dass von den anorganischen Salzen des Körpers die einen vornehmlich dem Gewebsaufbau, andere dagegen — unter ihnen vor Allem das Kochsalz — dazu dienen, mit den plasmatischen Flüssigkeiten des Körpers stetig zu circuliren. Von der letzteren Gruppe stehen wieder die einen mit Eiweisskörpern in chemischer Verbindung, andere sind lose Bruchstücke gesprengter Salz-Eiweissverbindungen, jederzeit bereit, mit neuen «chlorbedürftigen» Eiweisskörpern, die in den Säftestrom gelangen, in geschlossene Verbindung zu treten. Hiernach würde die Regulirung des Chlorstoffwechsels beherrscht von dem Eiweissumsatze, derart, dass unter Verhältnissen, in denen eine grosse Menge von «chlorbedürftigem» Eiweiss in den Säftestrom gelangt, ein entsprechendes Quantum der «losen» Chloride von ihm beschlagnahmt und verhältnissmässig wenig Chlor mit dem Harne herausgegeben wird.

Eine Reihe von Thatsachen stehen mit dieser Theorie Forster's im Einklange und haben ihr die Anerkennung mancher Forscher erworben. Insbesondere hat Röhmann[1]) für die seit Redtenbacher vielfach bestätigte, aber bis heute noch entfernt nicht aufgeklärte klinische Thatsache der verminderten Chlorausscheidung in fieberhaften Krankheiten, speciell in der Pneumonie, die Ideen Forster's vom permanenten Salzkreislauf herangezogen, indem er auf der Basis der Voit'schen Lehren den Uebertritt von «Organeiweiss» zu «circulirendem Eiweiss» als Ursache der Chlorverminderung im Fieber anspricht[2]).

---

1) Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. I.

2) Dieser Schluss hat von vorneherein offenbar nur dann Gültigkeit, wenn die — vorläufig rein hypothetische — Vorstellung zutrifft, dass das in erhöhtem Maasse zerfallende «Organeiweiss» nicht selber genügend Chlor mitbringt, um im Plasma als Eiweiss-Salzverbindung bestehen zu können, dass also mit anderen Worten die Organe im Verhältniss zu ihrem Stickstoffgehalt chlorärmer seien als die Säfte. (In wie weit der Chlorgehalt des im Blute circulirenden Eiweisses bei derartigen Betrachtungen gegenüber zu stellen ist dem Chlorgehalte der Eiweiss-

Meine Aufmerksamkeit wurde dem vorliegenden Gegenstande zugewendet durch einige auffällige Beobachtungen, welche sich gelegentlich anderwärtiger Versuche ergeben hatten.

Es wurden Hunde Wochen lang durch chlorarme Nahrung (ausgekochtes Fleisch) auf niederer Chlorausscheidung gehalten, um den Einfluss der Chloroformnarkose auf die Ausscheidung der Chloride im Harn festzustellen[1]). Während es nun anfangs ohne Schwierigkeit gelang, die Chloride auf constanten niederen Werthen zu erhalten, stellten sich bei solchen Thieren, die wiederholt zum Versuche benutzt waren, auffallende Unregelmässigkeiten ein, die im Wesentlichen in einer Steigerung der durchschnittlichen Tagesmenge der Chloride bestanden. Dabei zeigten die Thiere eine Reihe von krankhaften Erscheinungen, gingen in Ernährung und Körpergewicht zurück, trotzdem sie nach wie vor ihre volle — chlorfreie — Fleischration verzehrten. Der Harn erhielt reichlich Gallenfarbstoff. Als Beispiel mag nachfolgende Tabelle dienen:

Tab. I.

Hund von 20 Pfund Gewicht, erhielt täglich 500 gr. in destillirtem Wasser ausgekochten frischen Rindfleisches.

| Datum: | Harnmenge: | Cl Na[2]): |
|---|---|---|
| Mai 30. | 430 | 0,2782 |
| » 31. | 680 | 0,2427 |
| Juni 1. | 400 | 0,1606 |

Am 4. Nachmittags (zum 2. Male) Chloroform-Narkose. Keine Nahrungsaufnahme bis zum 5. Nachmittags. Kein Harn vom 2. bis 5. Abends.

---

stoffe in den Organen, ist eine Frage, deren Discussion von dem Gegenstande meiner Versuche weit abliegt und von deren Erörterung ich daher an dieser Stelle absehen muss.) Ein Versuch Röhmann's, der beweisen sollte, dass ein in gleichmässiger mittlerer Chlorausscheidung stehender Hund bei Zufuhr von $1^1/_2$ Pfund Fleisch weniger Chlor ausschied als vorher, ist, wie Röhmann selbst hervorhebt, nicht sehr überzeugend ausgefallen.

1) Ueber die Schicksale einiger organischer Chlorverbindungen im Organismus. Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. XI, S. 277.

2) Bestimmung der Chloride nach Volhard mit der Modification Salkowski's für den Hundeharn.

| Datum: 1886 | Harnmenge: | ClNa: |
|---|---|---|
| Juni 6. | 360 | 0,8140 |
| » 7. | 310 | 0,6225 |
| » 8. | 760 | 0,5255 |
| » 9. | 1050 | 1,0533 |
| » 10. | 670 | 0,8371 |
| » 11. | 720 | 0,8411 |
| » 12. | 770 | 0,9621 |
| » 13. | 490 | 0,5888 |
| » 14. | 500 | 0,5238 |
| » 15. | 300 | 0,4284 |
| » 16. | 600 | 0,7362 |
| » 17. | 660 | 0,8388 |
| » 18. | 330 | 0,5154 |
| » 19. | 370 | 0,4953 |
| » 20. | 430 | 0,4829 |
| » 21. | 510 | 0,4965 |

Wir brachten diese Symptome einer chronischen Chloroformvergiftung bei den Versuchsthieren — nachdem die strengste Controle alle äusseren Fehlerquellen mit Sicherheit ausschliessen konnte — in Zusammenhang mit den von uns gleichfalls bestätigten Erfahrungen Forster's über den steigernden Einfluss von Hungertagen auf die Chlorausscheidung beim chlorarmen Thiere. Die Thatsache, dass das Körpergewicht des Hundes während der Mehrausscheidung des Chlors merklich abnahm, würde nach Forster ausreichen, eine Erklärung dieser Erscheinung zu geben.

Für mich war es von besonderer Wichtigkeit, in diesem Falle zu constatiren, wie in Folge wiederholter Chloroform-Narkosen eine so schwere Störung des Gesammtstoffwechsels bei unserem Versuchsthiere auftrat, dass dadurch eine über Wochen sich erstreckende andauernde und beträchtliche Erhöhung der Chlorausscheidung herbeigeführt wurde, die nur auf Rechnung des verzehrten Körpergewichtes gesetzt werden konnte. Es handelte sich also bei dieser Wirkung des Chloroforms um eine erhebliche toxische Ernährungsstörung.

Dass bei absolutem Hunger eine erhebliche Chlorvermehrung beim chlorarmen Thiere auftritt, war durch Forster festgestellt. Dass aber trotz dauernder Aufnahme

chlorarmer Nahrung eine so erhebliche Kochsalzvermehrung bestehen kann, wie in unserm Versuche — darüber liegen meines Wissens noch keine Beobachtungen vor.

Es schien mir von Interesse, zu erfahren, ob und in welchem Grade die Kochsalzausscheidung beim gesunden Thiere durch Blutentziehung beeinflusst wird; ich konnte aber weder bei Forster noch in der anderweitigen einschlägigen Literatur Angaben über diesen Punkt finden[1]). Ich unternahm daher selbst einen Versuch in dieser Richtung, um eine präcisere Vorstellung über die Beziehungen der Chlorausscheidung zum Chlorgehalte des Blutes auf diesem Wege zu gewinnen.

Tab. II.

Hündin von 10 Kilo Gewicht. — Fütterung mit 500 gr. gekochtem Reis und 50 gr. Rindsfett.

| Datum: 1886 | Harnmenge: | Spec. Gewicht: | ClNa: |
|---|---|---|---|
| Juli 10. | 1040 | 1002 | 0,5817 |
| » 11. | 780 | 1003 | 0,3980 |
| » 12. | 830 | 1004 | 0,5524 |
| » 13. | 700 | 1006 | 0,5212 |
| » 14. | 860 | 1006 | 0,4548 |
| » 15. | 690 | 1004 | 0,4593 |
| » 16. | kein Harn. | | |
| Entziehung von 200 cbcm. Blut aus der Art. femoralis. | | | |
| Juli 17. | 190 | 1010 | **0,0573** |
| » 18. | 220 | 1035 | **0,0976** |
| » 19. | 360 | 1027 | **0,1725** |
| » 20. | 150 | 1025 | **0,0565** |
| » 21. | 420 | 1015 | 0,2413 |
| » 22. | 240 | 1020 | 0,4834 |
| » 23. | 220 | 1017 | 0,4881 |
| » 24. | 260 | 1017 | 0,4980 |

Die entnommene Blutmenge ergab nach Veraschung mit Soda und Salpeter einen Chlorgehalt von 0,2946 ClNa.

---

1) Dass die Stickstoffausscheidung durch Blutverluste gesteigert wird, haben vor längerer Zeit Bauer (Ueber die Zersetzungsvorgänge im Thierkörper unter dem Einflusse von Blutentziehungen. Habilitationsschrift. München 1872, u. Zeitschr. f. Biol., Bd. VIII, S. 567 ff.) und Jürgensen (Kieler Inaug.-Dissert. 1863) nachgewiesen

Es hatte also die Blutentziehung genau den entgegengesetzten Effect auf die Chlorausscheidung, wie die chronische Chloroformvergiftung in dem zuerst geschilderten Versuche, von welchem die vorliegende Beobachtung sich auch dadurch unterscheidet, dass in Folge der Zufuhr von mässig chlorhaltiger Nahrung hier bald das frühere Normalverhältniss wieder erzielt wurde. Es steht dieses Ergebniss — eine Reduction der Chlorausscheidung um das Zehnfache — in Uebereinstimmung mit klinischen Beobachtungen von Sticker[1]) und B. Markwaldt[2]), welche nach grösseren Blutverlusten (Menorrhagien, Nasenbluten u. dgl.) eine bedeutende Verminderung der Kochsalzmengen im Harn nachweisen konnten.

Die Erklärung dieser experimentellen klinischen Thatsachen liegt nicht ferne. Der entzogenen Blutquantität entspricht ein bestimmter — in unserm Versuche genau gemessener — Kochsalzgehalt; es wirkte also der Versuch wie eine Kochsalzentziehung. Zur Neubildung der verlorenen Blutelemente wird dann dasselbe bestimmte Kochsalzquantum wieder in Anspruch genommen, daher zurückgehalten.

Die bei der chronischen Chloroformvergiftung auftretende Ausscheidung von Gallenfarbstoff legte den Gedanken nahe, ob nicht diese Erscheinung sowohl als die gleichzeitig damit aufgetretene Steigerung der Chloride im Harn mit einer ausgedehnteren Zerstörung von rothen Blutkörperchen in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden müsse. Dabei warf sich zunächst die Vorfrage auf, ob überhaupt zwischen der Zerstörung der rothen Blutkörper und dem Verhalten der Kochsalzausscheidung irgend welche Beziehung anzunehmen sei.

Um diese Frage zu entscheiden, erschien es angezeigt, zunächst die Einwirkung des Kohlenoxyds, das man als

---

1) Sticker und Hübner, Ueber Wechselbeziehungen zwischen Sekreten und Exkreten im Organismus. Zeitschr. f. klinische Medicin, Bd. XII, S. 140.

2) Marckwaldt, Ueber die Wirkungen des Friedrichshaller Bitterwassers. Deutsche Med. Wochenschrift, 1886, No. 23.

ein Blutgift κατ' ἐξοχ. bezeichnen kann, auf die Kochsalzausscheidung zu studiren.

Durch Albert Fränkel's wichtige Untersuchungen ist als feststehend zu betrachten, dass durch die Kohlenoxydvergiftung ein sehr erheblich gesteigerter Eiweisszerfall im Organismus eingeleitet wird, der in einer beträchtlichen Vermehrung der stickstoffhaltigen Ausscheidungsproducte im Harn sich kundgibt.

Man konnte nun denken, dass dem erhöhten Zerfall des Eiweisses im Organismus bei gleichmässiger nicht kochsalzarmer Ernährung auch eine Steigerung der Kochsalzausscheidung entsprechen müsste. Der Versuch ergab das gerade Gegentheil dieser Erwartung.

## Tab. III.

Grosser Hund von 25 Kilo Gewicht. Zwei Hungertage, dann täglich zwei Pfund Rindfleisch, nicht ausgekocht.

| Datum: | Harnmenge: | ClNa: | |
|---|---|---|---|
| April 19. | 530 | 0,7685 | |
| » 20. | 660 | 0,6699 | |
| » 21. | 630 | 0,4567 | |
| » 22. | 710 | 0,6177 | |
| Zweimalige bis zur Asphyxie durchgeführte Kohlenoxydvergiftung. | | | |
| April 23. | 330 | 0,2863 | |
| » 24. | 760 | Spuren. | Harn reducirt sehr stark. |
| » 25. | 600 | Spuren. | do. do. |
| » 26. | 360 | 0,1522 | Harn reducirt noch schwach. |
| » 27. | 1000 | 0,4350 | Harn reducirt nicht mehr. |
| » 28. | 360 | 0,3654 | |
| » 29. | 610 | 0,6745 | |
| » 30. | 710 | 0,9396 | |
| Kohlenoxydvergiftung wie oben. | | | |
| Mai 1. | 160 | 0,5089 | Harn reducirt schwach. |
| » 2. | 420 | 0,1722 | Starke Reduction. |
| » 3. | 880 | 0,1903 | do. do. |
| » 4. | 540 | 0,1174 | do. do. |
| » 5. | 660 | 0,3828 | Schwache Reduction. |
| » 6. | 680 | 0,4319 | |
| » 7. | 710 | 0,4925 | |
| » 8. | 690 | 0,5230 | |

Tab. IV.

Grosser Hofhund von circa 40 Kilo Gewicht. Fütterung mit 1½ Pfund rohem Rindfleisch und 300 gr. Speck pro Tag.

| Datum: | Harnmenge: | Cl Na: |
|---|---|---|
| Mai 15. | 600 | 2,712 |
| » 16. | 500 | 1,3053 |
| » 17. | 600 | 1,6024 |
| Starke Vergiftung mit reinem kohlensäurefreiem Kohlenoxyd. | | |
| Mai 18. | 380 | **0,5075** |
| » 19. | 600 | **0,3987** |
| » 20. | 400 | **0,3642** |
| » 21. | 1150 | **0,4168** |
| » 22. } » 23. } | 800 | 0,6380 |
| » 24. | 680 | 0,5014 |
| » 25. | 670 | 0,3886 |
| » 26. | 640 | 0,9876 |
| » 27. | 580 | 0,9663 |
| » 28. | 780 | 0,9845 |
| » 29. | 900 | 0,9877 |

Dieses Ergebniss liesse sich mit den Röhmann-Forster-schen Anschauungen nur dann in Einklang bringen, wenn man annehmen würde, dass der Mehrzerfall von Eiweiss in der Kohlenoxydvergiftung ausschliesslich dem Gewebseiweiss entstammte; und auch dieser Schluss wäre nur zulässig, wenn man, wie oben erwähnt, des Weiteren unterstellen würde, dass das zerfallende Gewebseiweiss ohne oder mit nur geringem Kochsalzgehalt in's Blut eintrete und die vorhandenen Chloride energisch mit Beschlag belege. Für die Aufstellung einer derartigen weitgehenden Differenz zwischen Chlorgehalt der Organe und «Säfte» fehlt es, wenn überhaupt eine solche Gegenüberstellung thunlich ist, an jeder thatsächlichen Grundlage.

Die Schlüsse, welche man aus der Aenderung der Kochsalzausscheidung bei den Versuchsthieren ableiten kann, sind offenbar in hohem Maasse abhängig von dem Sättigungsgrade des Organismus mit Kochsalz.

Schon Forster hat, wie erwähnt, gezeigt, dass nur das kochsalzarme Thier im Hungerzustande eine Mehrproduction

von Chloriden liefert, während das kochsalzreiche Thier im Hunger allmälig seine Chloride im Harn verliert.

Auch bei der Kohlenoxydvergiftung lässt sich feststellen, dass ein und dieselbe Einwirkung beim kochsalzreichen und kochsalzarmen Thier sich in ihrem Einflusse auf den Chlorumsatz durchaus verschieden gestaltet — und zwar in noch ausgesprochenerer Weise als beim Hungerthier.

Die folgende Zusammenstellung soll zeigen, wie die Kohlenoxydvergiftung auf die Chlorausscheidung im Harne einwirkt, je nachdem das chlorreiche oder das chlorarme Thier ihr unterworfen wird.

## Tab. V.

Hund von 10 Kilo. — Zwei Hungertage. — Tägliche Fütterung mit $1^1/_2$ Pfund mit destillirtem Wasser erschöpftem Rindfleisch.

| Datum: 1887 | Harnmenge: | | ClNa: | |
|---|---|---|---|---|
| April 23. | 300 | | 0,2827 | |
| » 24. | 330 | | 0,3828 | |
| » 25. | 430 | | 0,2182 | |
| Dreimalige Kohlenoxydvergiftung bis zur Asphyxie. | | | | |
| April 26. | 310 | | | |
| | Davon a) zu Beginn des Vers.: | | | |
| | 250 | 0,1812 | | |
| | b) 26. Morgens: | | | |
| | 60 | 0,2175 | **0,3987** | |
| » 27. | 320 | | **0,5742** | |
| » 28. | 420 | | **0,5176** | |
| » 29. | 550 | | 0,3588 | |
| » 30. | 320 | | 0,2380 | |
| Mai 1. | 350 | | 0,2043 | |
| » 2. | 210 | | 0,1507 | |
| » 3. | 230 | | 0,1604 | |
| Schwache Kohlenoxydvergiftung. | | | | |
| » 4. | 800 | | **0,5220** | |
| » 5. | 180 | | 0,1044 | |
| » 6. | 300 | | 0,1305 | |
| » 7. | 470 | | 0,2746 | Der Hund erhält 1,0 ClNa zu seiner Tagesnahrung. |
| » 8. | 380 | | 0,1377 | Der Hund erhält 2,0 ClNa. |

| Datum: 1887 | Harnmenge: | Cl Na: | |
|---|---|---|---|
| Mai 9. | 300 | 0,2231 | Der Hund erhält 4,0 Cl Na. |
| » 10. / » 11. | 740 | 8,2621 | » » » 2,0 » |
| Starke Kohlenoxydvergiftung. | | | |
| » 12. | 150 | 1,0222 | » » » 2.0 » |
| » 13. | Verloren gegangen. | | » » » 2,0 » |
| » 14. | 400 | 1,0730 | » » » 2,0 » |
| » 15. | 300 | 0,5002 | » » » 2,0 » |
| » 16. | 300 | 0,2392 | » » » 2,0 » |
| » 17. | 370 | 0,7263 | » » » 2,0 » |
| » 18. | 470 | 1,0458 | » » » 2,0 » |
| » 19. | 600 | 3,6115 | » » » 2,0 » |
| » 20. | 400 | 3,4263 | » » » 2,0 » |
| » 21. | 450 | 2,9377 | Kein Chlornatrium mehr. Ausschliesslich Fütterung mit dem erwähnten chlorarmen Futter. |
| » 22. | 300 | 2,0228 | |
| » 23. | 450 | 1,0490 | |
| » 24. | 300 | 0,8794 | |
| » 25. | 450 | 0,6524 | |
| » 26. | 320 | 0,5480 | |
| » 27. | 200 | 0,5206 | |
| » 28. | 200 | 0,4011 | |
| » 29. | 300 | 0,4022 | |
| » 30. | 300 | 0,1668 | |
| » 31. | 250 | 0,1023 | |
| Juni 1. | 230 | 0,1670 | |
| » 2. | 210 | 0,1024 | |
| » 3. | 340 | 0,0740 | |
| Schwache Kohlenoxydvergiftung. | | | |
| » 4. | 300 | 0,2175 | |
| » 5. | 200 | 0,2540 | |
| » 6. | 370 | 0,2614 | |

Als Ergebniss der vorstehenden Versuche stellt sich also zunächst ein einschneidender Unterschied heraus, je nachdem ein chlorarmes oder ein in normaler Chlorausscheidung bezw. in Chlorüberfluss befindliches Thier zum Versuche verwendet wurde: Thiere der letztgenannten Kategorie zeigten bei der Kohlenoxydvergiftung eine hochgradige Verminderung der Kochsalzausscheidung, welche im Versuch Tab. III

bis auf unbestimmbare Spuren herabgedrückt wurde und in der Regel am 2. bis 3. Tage nach der Vergiftung ihren niedersten Werth erreichte. Selbst künstlich eingeführte gemessene Kochsalzmengen wurden von solchen Thieren zurückgehalten und nicht mit dem Harne herausgegeben (vergl. Tab. V). Dabei ist bemerkenswerth, dass diese Verminderung der Chloride beim chlorreichen Thier in ausgesprochener Weise der Reductionsfähigkeit des Harnes parallel ging, derart, dass an den Tagen die Verminderung der Chlorausscheidung am beträchtlichsten war, an welchen der Harn die Fehling'sche Lösung am stärksten reducirte.

Umgekehrt zeigte sich beim chlorarmen Thier als Folge der Vergiftung zunächst eine mässige Vermehrung der Harnchloride.

Sehr anschaulich treten diese Verhältnisse hervor in der mit Tab. V angeführten Beobachtungsreihe, in welcher ein und dasselbe Versuchsthier, je nachdem es künstlich chlorarm oder chlorreich gemacht wurde, in entgegengesetzter Weise auf die Vergiftung reagirte.

Um für dies differente Verhalten an der Hand der wiederholt erwähnten Theorie ein Verständniss zu gewinnen, würde schon wieder eine Erweiterung der obengenannten hypothetischen Prämisse nöthig fallen. Man müsste offenbar annehmen, dass das im normalen Körper vorhandene Verhältniss sich so umkehrte, dass die Organe ihr Chlor mehr festhalten als die Säfte, im Verhältniss zu letzteren reicher an Chlor bleiben. Dies ist aber durch frühere Untersuchungen als thatsächlich unzutreffend erkannt worden.

Wenn schon dieses Ergebniss der Annahme einer einfachen Beziehung zwischen Chlorausscheidung und Stickstoffumsatz nicht günstig erschien, so zeigten die folgenden Versuche direct, dass von einer derartigen directen Proportionalität nicht die Rede sein kann. Wir wählten, um diese Frage weiter zu prüfen, die Vergiftung mit einer Substanz, von der längst bekannt ist, dass sie eine erhebliche Steigerung zunächst des Eiweissumsatzes herbeiführt — den Phosphor.

Tab. VI.

Ein grosser Hund (circa 40 Kilo Gewicht) wird mit täglich 2 Pfund Fleisch und 500 cbcm. Wasser ernährt.

Nachdem am Tage vorher Bestimmungen des Stickstoffs, der Chloride und des Schwefels[1]) ausgeführt worden waren, erhielt das Thier am 27. Juni eine Dosis von 0,85 Phosphor. Kein Erbrechen. Vom 27. bis 28. wird zur Verhütung desselben kein Wasser gereicht. Vom Tage der Vergiftung an verweigerte das Thier seine Nahrung, soff aber Wasser.

| Datum: | Harnmenge: | Spec. Gewicht: | Stickstoff in gr.: | Cl Na: | Gesammt-Schwefel: |
|---|---|---|---|---|---|
| Juni 27. | 760 | 1040 | 19,5 | 1,396 | 1,5777 |
| | | Mittags | Vergiftung. | | |
| » 28. | 20 | ? | 0,66 | 0,08 | — |
| » 29. | 740 | 1046 | 32,56 | 0,429 | 1,985 |
| » 30. | 1140 | 1050 | 52,98 | 0,585 | 3,385 |
| Juli 1. | 790 | 1043 | 32,07 | 3,030 | 2,214 |
| » 2. | 770 | 1040 | 23.28 | 2,833 | 1,520 |
| » 3. | 910 | 1034 | 36,39 | 1,485 | — |

Das Thier, welches schon am 28. in der angeführten spärlichen Menge dunkeln, gallenfarbstoffhaltigen Harn entleert hatte, war bis zum 2. Juli sichtlich schwer afficirt, erholte sich aber allmälig und überlebte schliesslich die Vergiftung.

Die vorstehenden Zahlen lehren, dass eine directe einfache Beziehung zwischen der Höhe der Stickstoffausscheidung und den Werthen des Kochsalzumsatzes nicht nothwendiger Weise zu bestehen braucht, wenn auch zu Anfang des Versuches bei dem — nicht kochsalzarmen — Thiere der Steigerung des Stickstoffs eine beträchtliche Verminderung der Chloride parallel ging.

Theils die Erfahrungen bei der Chloroformvergiftung, theils die Resultate bei der Einwirkung des Kohlenoxyds

---

[1]) Die Bestimmung des Stickstoffes (nach Kjeldahl), sowie des Schwefels wurde von Herrn Dr. E. Goldmann ausgeführt, welcher sich von anderen Gesichtspunkten aus an dem Versuche betheiligte. Vergl. Goldmann, Experimentelle Beiträge zur Lehre von der Cystinurie und der Schwefelausscheidung im Harne. Inaugural-Dissert. Freiburg 1887. S. 28 ff.

lenkten unser Augenmerk darauf hin, die Einwirkung solcher Gifte in den Bereich der Untersuchung zu ziehen, welche direct eine Zerstörung der rothen Blutkörper zur Folge haben.

Wir brachten zunächst das Pyrogallol zur Anwendung.

Tab. VII.

Hund von 16 Kilo. — Zwei Hungertage. — Ernährung mit 2 Pfund ausgekochten Rindfleischs und 400 cbcm. Wasser.

| Datum: | Harnmenge: | Spec. Gewicht: | Cl Na: | |
|---|---|---|---|---|
| Februar 16. | 420 | 1040 | 0,2932 | |
| » 17. | 470 | 1040 | 0,2357 | |
| » 18. | 580 | 1046 | 0,3037 | |
| » 19. | 760 | 1040 | 0,1837 | |
| Einspritzung von 3 gr. Pyrogallol in wässeriger Lösung unter die Haut. | | | | |
| Februar 20. } » 21. } | 1120 | 1040 | 2,1432[1]) | Der Harn enthält reichlich Blutfarbstoff, viel Eiweiss. |
| Davon | | | | |
| a) unmittelbar nach dem Versuch: | 170 | 1032 | 0,1183 | |
| b) Rest 19. Abends bis 21.: | 950 | 1040 | 2,0249 | |
| » 22. Das Thier ist verendet. | | | | |

Tab. VIII.

Kleiner Jagdhund. 14 Kilo. Zwei Hungertage. 2 Pfund chlorarmes Fleisch.

| Datum: | Harnmenge: | Spec. Gewicht: | Cl Na: | |
|---|---|---|---|---|
| April 2. | 840 | 1025 | 0,0297 | |
| » 3. | 920 | 1022 | 0,0321 | |
| » 4. | 800 | 1024 | 0,0807 | |
| Einspritzung von 0,3 Pyrogallol. | | | | |
| » 5. | 650 | 1028 | 0,0225 | Harn etwas dunkel gefärbt, enthält weder spectroscopisch Blutfarbstoff, noch Gallenfarbstoff; ist frei von Eiweiss. |

[1]) Chlorbestimmung in dem vorher von Eiweiss befreiten Harn.

| Datum: | Harnmenge: | Spec. Gewicht: | Cl Na: | |
|---|---|---|---|---|
| April 6. | 600 | 1022 | 0,0242 | |
| » 7. | 620 | 1022 | 0,0219 | |
| » 8. | 700 | 1024 | 0,0247 | |
| » 9. | 800 | 1021 | 0,0201 | |
| » 10. | 680 | 1025 | 0,0340 | |
| » 11. | 700 | 1025 | 0,0230 | |
| | 2 gr. Pyrogallol per os. | | | |
| » 12. | 580 | 1024 | 0,6991[1]) | Harn enthält sehr viel Hämoglobin und Methämoglobin, reichlich Eiweiss. |
| » 13. | 380 | 1026 | 0,4164 | |
| | Tod des Thieres. | | | |

Diese Versuchsergebnisse sind nach zwei Richtungen bemerkenswerth: einmal beweisen sie, dass ein Gift, welches, wie durch frühere Versuche (Baumann und Herter, Jüdell, Neisser) feststeht, wesentlich dadurch wirkt, dass es eine Auflösung der rothen Blutkörper hervorbringt, die Chloridausscheidung im Harne sehr erheblich steigert. Zum Andern ist hervorzuheben, dass diese Vermehrung eintritt, trotzdem die Pyrogallussäure erfahrungsgemäss das Nierengewebe sehr erheblich afficirt und die Folgen dieser Wirkung auch bei unseren Versuchsthieren und zwar anatomisch festgestellt werden konnten.

Es könnte daran gedacht werden, dass in den eben geschilderten Versuchen, welche sich von den vorhergehenden durch die Erscheinung der Albuminurie unterscheiden, die vermehrte Chlorausscheidung auf Rechnung der letzteren gesetzt werden müsste, dass etwa das in den erkrankten Nieren durchgetretene Serumeiweiss mehr Kochsalz mit sich genommen habe. Abgesehen davon, dass im Verhältniss zu der colossalen Kochsalzsteigerung die ausgeschiedenen Eiweissmengen viel zu unbeträchtliche waren, als dass diese Annahme gerechtfertigt erschiene, so hat Klees bereits gelegentlich zu anderem Zwecke unternommener Versuche festgestellt, dass die Albu-

[1]) In dem von Eiweiss befreiten Harn.

minurie an sich jedenfalls keine Vermehrung der Kochsalzausscheidung zur Folge hat[1]).

Dazu kommt, dass das Ergebniss des folgenden Versuches einer derartigen Annahme keinen Raum gibt.

Die heftige Giftwirkung der Pyrogallussäure auf den Organismus legte die Annahme nahe, dass ihre Anwendung für unseren Zweck insofern über das Ziel hinausging, als sie ihre destructive Wirkung nicht auf die Elemente des Blutes beschränkt, sondern auch den übrigen Gewebsumsatz erheblich beeinflusst.

Um so klarere Ergebnisse versprachen wir uns von einem anderen Körper, von welchem seit Stadelmann's interessanten Mittheilungen durch eine Reihe von Untersuchern (Afanassien, Stern, Naunyn und Minkowski) festgestellt wurde, dass er in erster Linie als energisches Auflösungsmittel der rothen Blutkörperchen wirksam ist.

Tab. IX.

Hund von 12 Kilo. Zwei Hungertage. Zwei Pfund ausgekochtes Rindfleisch pro Tag.

| Datum: | Harnmenge: | Spec. Gew.: | Cl Na: | |
|---|---|---|---|---|
| März 20. / » 21. | 700 | 1050 | 0,4830 | |
| » 22. | 520 | 1044 | 0,2452 | |
| » 23. | 360 | 1045 | 0,1386 | |
| » 24. | 440 | 1042 | 0,0536 | |
| » 25. | 330 | 1043 | 0,0518 | |
| Einspritzung 0,5 gr. Toluylendiamin in wässeriger Lösung unter die Haut. | | | | |
| März 26. | 380 | 1041 | 0,3372 | Harn enthält reichlich Gallenfarbstoff, kein Eiweiss. |
| » 27. / » 28. | 350 | 1042 | 0,5511 | do. do. |
| » 29. | 380 | 1039 | 0,3548 | do. do. |
| » 30. | 550 | 1030 | 0,2421 | do. do. |
| » 31. | 630 | 1029 | 0,1320 | Nur noch Spuren von Gallenfarbstoff. |
| April 1. | 760 | 1026 | 0,0397 | Kein Gallenfarbstoff. |
| » 2. | 840 | 1025 | 0,0297 | |
| » 3. | 920 | 1022 | 0,0321 | |

1) Klees, Over Chlorvermindering in de Urine etc., Acad. Proefschrift (Stokvis), Amsterdam 1885.

Wenn in dem vorstehenden Versuche wegen des Fehlens der Albuminurie der in dieser Richtung vorhin erwähnte Einwand in Wegfall kommt, so bleibt hier als einfachste Erklärung der vermehrten Chlorausscheidung die Zerstörung der rothen Blutkörperchen an sich, resp. die Herausgabe ihrer Trümmer mit dem Harne.

Dass Chloride in den rothen Blutkörperchen enthalten sind, ist seit längerer Zeit bekannt. In neuerer Zeit hat Bunge[1]) den Nachweis geführt, dass auch Chlornatrium gerade in Hundeblutkörperchen relativ reichlich enthalten ist.

Zieht man aber — unter Zugrundelegung der Bunge-schen Analysen — die quantitativen Verhältnisse in Betracht, so zeigt sich sofort, dass die Chlorvermehrung Werthe erreicht, welche mit dem denkbaren Umfang der Blutkörperchenzerstörung ausser allem Verhältniss stehen. Man wird z. B. nicht wohl annehmen dürfen, dass in dem Versuch IX das Versuchsthier $^1/_4$—$^1/_3$ seiner gesammten Blutkörper in Trümmern im Harne herausgibt, und das wäre doch nöthig, um die Steigerung der Kochsalzausscheidung um mehr als 2 Decigramm aus diesem Momente allein zu erklären.

Es muss also die Blutkörperchenzerstörung ihrerseits noch in einer anderen Weise derart auf den Stoffwechsel wirken, dass eine gesteigerte Chlorausscheidung zu Stande kommt.

Wenn wir auf die bisher geschilderten Beobachtungen zurückblicken, so enthalten dieselben zunächst eine Reihe von Einzelthatsachen, die geeignet erscheinen, neue Gesichtspunkte in die Discussion über die Frage der Chlorausscheidung einzuführen. Sie zeigen, dass, ähnlich wie unter bestimmten Verhältnissen am Krankenbett, künstlich im Experiment Ernährungsstörungen des Organismus hervorgebracht werden können, welche durch eine wesentliche Veränderung der mittleren Kochsalzausscheidung im Harn charakterisirt sind.

In einer Reihe dieser Einzelfälle zeigt sich ein — um vorläufig nicht weiter zu gehen — zeitliches Zusammentreffen dieser veränderten Chlorausscheidung mit den Schwankungen des Eiweissumsatzes.

---

1) Zeitschrift f. Biolog., Bd. XII, S. 191 ff.

So haben die Blutentziehung, die Phosphorvergiftung, die Kohlenoxydvergiftung (beim chlorreichen Thier) — alles Processe, welche feststehendermassen mit einer Steigerung des Stickstoffumsatzes verknüpft sind — gleichmässig und übereinstimmend zu einer bald mehr, bald weniger erheblichen Verminderung des Kochsalzgehaltes im Harn geführt. So nahe die Versuchung liegen mag, diese Coincidenz als den Ausdruck eines bestimmten gegenseitigen Verhältnisses, etwa einer umgekehrten Proportionalität, zwischen Stickstoff- und Chlorausscheidung aufzufassen, so stehen anderseits einer solchen Verallgemeinerung ebenso prägnante Thatsachen gegenüber: die Kohlenoxydvergiftung des chlorarmen Thieres, die absolute Carenz bei Chlorentziehung.

Dazu kommt, dass die Versuchsergebnisse mit Blutkörperchen zerstörenden Mitteln sich von der Beeinflussung des allgemeinen Gewebsumsatzes durchaus unabhängig erweisen, so dass in der Zerstörung der Blutkörper an sich ein neues und selbstständiges Moment der Chlorvermehrung im Harn hervorgetreten ist.

Nach alledem drängt sich für die Erklärung der klinischen wie experimentellen Anomalien der Chlorausscheidung der Gedanke auf, dass die specifische Einwirkung des Krankheitserregers auf die Thätigkeit der Zellen dafür bestimmend ist, ob und in wie weit eine Störung des Chlorumsatzes im Krankheitsbilde hervortritt. Diese Einwirkung auf den Chlorumsatz kann mit einer gleichzeitig hervorgerufenen Störung des Eiweissumsatzes einhergehen, aber auch ohne eine solche selbstständig bestehen. Für den Ausfall der Wirkung eines Giftes oder Krankheitserregers wird unter anderen Momenten von Belang sein, in wie weit durch denselben eine Zerstörung der rothen Blutkörper hervorgebracht wird.

Es mag verfrüht erscheinen, aus den mitgetheilten Versuchsergebnissen ohne Weiteres eine Theorie der Chlorausscheidung zu formuliren. Doch ist es zweifellos geboten, wenigstens die zunächst liegenden Consequenzen in einigen Sätzen zusammenzufassen.

Zwei Factoren sind es offenbar, welche nach meinen Untersuchungen die Ausscheidung der Chloride beherrschen:

1. bestimmte Beziehungen der Chlorausscheidung zum Eiweissumsatz;
2. der Einfluss der Zerstörung rother Blutkörperchen.

Man könnte sich nun denken, dass der fieberhafte Process im Allgemeinen — nach Art der Blutentziehung, der Kohlenoxydvergiftung, der Phosphorintoxication — zunächst eine Herabminderung der Chloridausscheidung zur Folge hat. Dieser Schluss würde auch mit der Forster-Röhmann'schen Auffassung des Chlorstoffwechsels im Einklange stehen.

Gleichzeitig oder in Folge des fieberhaften Processes aber könnten Erscheinungen hervortreten, welche ihrerseits die Chlorausscheidung entweder noch weiter herabsetzen oder aber ihr direct entgegenwirken, resp. sie sogar übercompensiren.

In der erstgenannten Richtung wirkt offenbar die Bildung von Exsudaten erheblicheren Umfangs (Pneumonie, Pleuritis), in entgegensetztem Sinne aber äussern alle diejenigen Momente ihren Einfluss auf die Chlorausscheidung, welche eine Zerstörung rother Blutkörperchen zur Folge haben.

So führen unsere Versuche direct dazu, die scheinbar paradoxe Chlorvermehrung im Wechselfieber — welche in neuerer Zeit A. Fränkel wieder mit Sicherheit festgestellt hat — in Beziehung zu bringen zu dem bei dieser Krankheit bekanntlich ganz besonders ausgedehnten Zerfall rother Blutkörper.

Dabei soll ausdrücklich wiederholt werden, dass die Chlorvermehrung im Harne durch Auflösung von rothen Blutkörperchen sich nicht einfach durch den Chlorgehalt der zerstörten rothen Blutkörper erklären lässt. Man muss vielmehr beachten, wie aus meinen Versuchen hervorgeht, dass die Zerstörung der rothen Blutkörper an und für sich eine viel schwerere Schädigung des Gesammtstoffwechsels zur Folge hat, als man bisher wohl angenommen hat.

Freiburg. Laboratorium des Prof. Baumann.

## Elementaranalyse des Hundeblut-Hämoglobins.

Von

**Alfred Jaquet**, Stud. med.

(Aus dem Laboratorium des Professor Bunge in Basel.)

(Der Redaction zugegangen am 18. Januar 1888.)

Zinoffsky[1]) hat durch eine Reihe genauer Analysen gezeigt, dass die bisherigen Bestimmungen des Eisen- und Schwefelgehaltes im Hämoglobin sehr ungenau gewesen sind, dass das Hämoglobin des Pferdeblutes nur 0,335 % Eisen und 0,390 % Schwefel enthält und dass auf ein Atom Eisen genau zwei Atome Schwefel kommen.

Es wird hierdurch sehr wahrscheinlich, dass die früheren Analysen des Hämoglobins von anderen Thieren gleichfalls falsche Werthe für den Eisen- und Schwefelgehalt ergeben haben. Ich stellte mir daher die Aufgabe, zunächst das Hämoglobin des Hundeblutes einer nochmaligen, sorgfältigen Elementaranalyse zu unterwerfen.

Von zwei grossen Hunden wurden 3,7 Liter defibrinirten Blutes erhalten und durch Centrifugiren vom grössten Theil des Serums befreit. Der Blutkörperbrei wird mit dem doppelten Volumen Wasser versetzt, auf 35° C. erwärmt, nach dem Abkühlen mit Aether geschüttelt und im Uebrigen so verfahren, wie Hoppe-Seyler es angiebt und wie auch Zinoffsky bei der Darstellung des Präparates III (S. 23 seiner Abhandlung) verfahren ist[2]). Die gewonnenen Krystalle werden noch zwei mal umkrystallisirt.

---

1) O. Zinoffsky, diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 16. 1886.

2) Hüfner hat die Vermuthung ausgesprochen, die abweichenden Resultate Zinoffsky's seien der abweichenden Methode seiner Darstellung der Hämoglobinkrystalle zuzuschreiben. Hüfner übersieht, dass das Präparat III von Zinoffsky nach derselben Methode dargestellt war, wie die Präparate der übrigen Autoren, und dass die Analyse dieses Präparates III dieselben Zahlen für den Eisen- und Schwefelgehalt ergab,

Die Methoden der Analyse waren genau dieselben wie in der Arbeit Zinoffsky's:

3,0903 gr. der bei Zimmertemperatur getrockneten Krystalle verloren beim Trocknen bei 115—118° C. 0,3339 $H_2O$ = 10,80%.

4,0129 gr. verloren 0,4356 $H_2O$ = 10,85%.

Zur Controle wurde eine Bestimmung von Prof. Bunge ausgeführt:

2,2785 gr. verloren 0,2424 $H_2O$ = 10,64%.

Als Mittel aus allen 3 Bestimmungen findet man 10,76% $H_2O$.

## Eisenbestimmung.

10,1999 gr. (= 9,1020 gr. des trockenen Hämoglobins) werden eingeäschert und in der Asche wird das Eisen durch Titration bestimmt. Es werden gefunden 0,3337% Fe, auf das trockene Hämoglobin berechnet.

Man könnte befürchten, es sei beim Verbrennen des Hämoglobins in der offenen Platinschale ein wenig Eisenoxyd durch die Flamme mechanisch fortgerissen worden und der Werth für das Eisen dadurch zu niedrig ausgefallen. Deshalb wurde die folgende Eisenbestimmung zugleich mit einer Schwefelbestimmung ausgeführt. Beim Zusammenschmelzen mit Kalihydrat und Salpeter in der bedeckten Silberschale konnte jedenfalls kein Eisenoxyd fortfliegen. Die Schmelze wurde in heissem Wasser gelöst, die Lösung durch ein aschenfreies Filter filtrirt. Das Eisenoxyd bleibt auf dem Filter und wird mit heissem Wasser ausgewaschen. Das Filter wird in einer Platinschale eingeäschert, die Asche in Salzsäure gelöst. An der Silberschale haftet stets noch ein leichter Anflug von Eisenoxyd. Dieser wird mit etwas ganz verdünnter Salzsäure gelöst. Die Lösung wird mit der Lösung der Filterasche in der Platinschale vereinigt und fast bis zur Trockne eingedampft, der Rückstand in verdünnter Schwefelsäure gelöst, reducirt und titrirt. Auf diese Weise wurden in 8,6662 gr. (= 7,7334 Trockensubstanz) gefunden: 0,3324% Fe.

---

wie die der beiden anderen Präparate Zinoffsky's. Siehe Hüfner. Beitrag zur Lehre vom Blutfarbstoffe in den «Beiträgen zur Physiologie. Carl Ludwig zu seinem siebzigsten Geburtstage gewidmet von seinen Schülern». Leipzig, Vogel, 1887, S. 74.

Zur Controle wurden noch drei Bestimmungen von Prof. Bunge ausgeführt:

10,560 gr. (= 9,423 gr. Trockensubstanz) werden eingeäschert und in der Asche das Eisen durch Titration bestimmt. Es werden gefunden: 0,3329 % Fe.

13,712 gr. (= 12,236 gr. Trockensubstanz) mit Kalihydrat und Salpeter geschmolzen. Das Eisen titrirt. Gefunden: 0,3314 % Fe.

26,509 gr. (= 23,658 gr. Trockensubstanz) werden eingeäschert und das Eisen durch Gewichtsanalyse bestimmt. Es werden gefunden: 0,1126 $Fe_2O_3$ = 0,07882 Fe = 0,3331 % Fe.

Als Mittel aus allen 5 Bestimmungen findet man **0,3327 % Fe.**

## Schwefelbestimmung.

8,6662 gr. (= 7,7334 Trockens.) gaben 0,3050 $BaSO_4$ = 0,5417 % S.
10,605 gr. (= 9,464 Trockens.) gaben 0,3730 $BaSO_4$ = 0,5414 % S.
} Mittel: 0,5416 %.

Das Aequivalentverhältniss des Schwefels zum Eisen berechnet sich:

$$\frac{x \,.\, 32}{56} = \frac{0,5416}{0,3327}; \; x = 2,85.$$

Es scheint, dass die Schwefelbestimmungen etwas zu niedrige Werthe ergeben haben und dass im Hämoglobin des Hundeblutes drei Atome Schwefel auf ein Atom Eisen kommen. Weitere Schwefelbestimmungen konnten leider aus Mangel an Material nicht ausgeführt werden. Die Darstellung eines neuen Präparates und eine genauere Bestimmung des Schwefels ist dringend geboten. Nur aus äusseren Gründen habe ich meine Untersuchungen abbrechen müssen. Soviel aber lässt sich aus den vorliegenden Zahlen bereits mit Sicherheit schliessen, dass der Schwefelgehalt des Hundebluthämoglobins bei gleichem Eisengehalte weit höher ist als der des Pferdebluthämoglobins. Bemerken will ich noch, dass die von mir bei der Schwefelbestimmung angewandten Reagentien: Kali, Salpeter, Salpetersäure und Salzsäure, absolut schwefelfrei waren.

## Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung.

0,4338 bei 115—118° C. getrockneten Hämoglobins gaben 0,2540 $H_2O$ und 0,8555 $CO_2$ = 6,505% H und 53,8% C.

0,4006 Hämoglobin gaben 0,2426 $H_2O$ und 0,7933 $CO_2$ = 6,727% H und 54,01% C.

Mittel: H 6.62%.
C 53,91%.

## Stickstoffbestimmung.

0,2878 Hämoglobin gaben 0,3253 Pt = 16,06% N.
0,3176 » » 0,3588 » = 15,90 » » } Mittel: 15,98% N.

Ich stelle nun die gefundenen Durchschnittswerthe mit den genau nach derselben Methode von Zinoffsky für das Pferdeblut gefundenen Werthen zusammen.

| | Hämoglobin vom Pferde: | Hämoglobin vom Hunde: |
|---|---|---|
| C | 51,15 | 53,91 |
| H | 6,76 | 6,62 |
| N | 17,94 | 15,98 |
| S | 0,390 | 0,542 |
| Fe | 0,335 | 0,333 |
| O | 23,43 | 22,62. |

Die Hämoglobine der beiden Thierarten sind also nicht identisch.

Basel, im Januar 1888.

# Analyse einer chylösen pericardialen Flüssigkeit (Chylopericardium).

Von

**Dr. Karl Hasebroek,**

Assistent an der medicinischen Klinik zu Rostock.

(Der Redaction zugegangen am 19. Februar 1888.)

Während meiner Assistentenzeit am physiolog.-chem. Institut zu Strassburg hatte ich Gelegenheit, im Sommer 1885 eine von Prof. v. Recklinghausen dem Institut gütigst zugesandte «chylöse» Flüssigkeit, welche bei einer Section aus dem Herzbeutel der Leiche entnommen war, chemisch zu untersuchen[1]).

[1]) Diese Flüssigkeit wurde gefunden bei der Section eines Falles (4. Juli 1885), über welchen ich Herrn Prof. von Recklinghausen folgende Mittheilungen aus dem Sectionsprotocoll verdanke: Wegen einer durch Ulceration bedingten Strictur der Trachea im untern Theil wurde der Patient tracheotomirt, die Strictur aber nicht überwunden. Patient starb mit Erguss von blutigem Schleim in die grossen Luftwege gleich nach den Operationsversuchen. Bei der Section fanden sich keine Veränderungen in den Lungen, keine tuberculösen Herde, auch nicht in den übrigen Organen, ferner keine chylöse Flüssigkeit in den grossen Körperhöhlen, nur im Pericardium die blassröthliche sehr trübe, die wie Milch, welcher einige Tropfen Blut zugemischt werden, aussah, aber keine Fibrinausscheidungen enthielt. Das Pericardium war ganz normal, nur an dem Pericardialüberzug der vena cava an ihrem Eintritt in den Vorhof eine gelbweisse Stelle, die sich beim Anschneiden nicht verändert. Es wurde von Prof. von Recklinghausen constatirt, dass in der weisslichen Flüssigkeit die Körnchen sich wie Chyluskörperchen verhielten; sie schwanden in Essigsäure, während Eiweissfällung erfolgte, blassten ab in Glycerin unter Bildung feiner Tröpfchen, nirgends bilden sich Haufen oder Colonien wie Mikrokokken, nirgends Ketten von Stäbchen, nirgends zeigte sich spontane Bewegung.

In der Hoffnung, im Laufe der Zeit gelegentlich einen weiteren, ähnlichen Befund zu bekommen und zum Zwecke einer Analyse verwerthen zu können, sind die Ergebnisse bis jetzt nicht publicirt worden; bei der Seltenheit jedoch, mit der ein solcher Sectionsbefund vorzukommen scheint — ich finde in der Literatur keinen einzigen ähnlichen Fall — glaube ich nicht länger mit der Veröffentlichung der gefundenen Zahlenwerthe warten zu dürfen, um so mehr nicht, als überhaupt die Anzahl der Analysen von pericardialen Flüssigkeiten sehr klein ist und einigermassen detailirte Analysen nur drei existiren, von Gorup-Besanez, Wachsmuth und Hoppe-Seyler.

---

Ich theile zunächst meine Analyse mit, um dann dieselbe mit den von den obengenannten Untersuchern gefundenen Werthen zu vergleichen.

Es waren 22,6 cbcm. einer weisslichen Flüssigkeit, welche mir, mit mehrfachem Volumen Alkohol bereits versetzt, von Prof. Hoppe-Seyler übergeben wurden. Hierin fand ich[1]):

| | Absolut. | In 1000 Theilen. |
|---|---|---|
| Wasser | 20,3473 | 892,782 |
| Feste Stoffe | 2,3537 | 103,612 |
| Albuminstoffe | 1,6752 | 73,789 |
| Cholesterin | 0,0766 | 3,340 |
| Lecithin | 0,0402 | 1,771 |
| Fette | 0,2442 | 10,767 |
| Alkoholextractstoffe | 0,0465 | 2,048 |
| Wasserextractstoffe | 0,0580 | 2,555 |
| Salze | 0,2120 | 9,336 |

[1]) Gang der Analyse nach Hoppe-Seyler's Handbuch, V. Aufl, S. 423 ff.

Vergleicht man diese Zahlen mit den von Gorup-Besanez (I.)[1], Wachsmuth (II.)[2], Hoppe-Seyler (III.)[3]) gefundenen — ich stelle meine Analyse in den Hauptpunkten daneben (IV.) —,

(In 1000 Theilen.)

| | I. | II. | III. | IV. |
|---|---|---|---|---|
| Wasser . . . . . . . . . | 955,1 | 962,5 | 961,78 | 892,782 |
| Feste Stoffe . . . . . . | 44,9 | 37,5 | 38,22 | 103,612 |
| Fibrin . . . . . . . . . | 0,8 | — | — | — |
| Albumen . . . . . . . . | 24,7 | 22,8 | 24,63 | 73,789 |
| Extract-Stoffe. . . . . . | 12,7 | — | — | 20,481 |
| Anorganische Salze . . . . | 6,7 | — | — | 9,336 |

so zeigt sich ein grosser Unterschied: die Zahlenwerthe der festen Substanzen sind für die von mir untersuchte Flüssigkeit beträchtlich höher, und zwar so viel, dass man ohne Weiteres annehmen muss, dass es sich in dem Strassburger Fall (IV.) um etwas ganz Anderes gehandelt haben muss, wie um ein einfaches seröses oder sero-fibrinöses Transsudat, wie es bei jenen früheren Fällen vorgelegen hat.

---

Es ist nnn nicht schwer, an der Hand der vollständigen Analyse nachzuweisen, dass es sich bei der von mir untersuchten Flüssigkeit um «Chylus» gehandelt haben muss, und dass somit die schon makroskopisch und mikroskopisch vermuthete und erwähnte «chylöse» Beschaffenheit sich durch die Zahlen der chemischen Analyse bestätigen lässt.

Zunächst ist dem Chylus eigenthümlich ein hoher Fettgehalt, der ihn bekanntlich hauptsächlich von der Lymphe unterscheidet: nach der Analyse befanden sich in der untersuchten Flüssigkeit 10,767‰ Fett, ein Gehalt, wie er nur beim Chylus vorkommt.

---

1) Lehrbuch.

2) Archiv f. pathol. Anat., Bd. VII, S. 334.

3) Lehrbuch d. physiol. Chemie, S. 605.

Es existirt, so viel ich weiss, nur eine Analyse vom menschlichen Chylus, welcher direct aus dem Ductus thoracicus entnommen ist; es ist das die Analyse von Rees[1]), aus dem Jahre 1842, welcher bei Gelegenheit einer Hinrichtung den Chylus für seine Untersuchung von einem Enthaupteten $1^1/_4$ Stunde nach dem Tode entnahm. Leider ist die Methode der Rees'schen Analyse nicht derart, dass man alle Angaben zum Vergleich herbeiziehen könnte; ich theile deshalb nur den Gehalt an festen Stoffen und an Eiweiss mit, welche sicher richtig sind. Er fand in 1000 Theilen:

| | |
|---|---|
| Feste Stoffe | 95,2, |
| Eiweiss | 70,8. |

Diese Angaben, resp. das Verhältniss dieser beiden Zahlenwerthe zu einander, stimmen mit meinem Befund gut überein; ich fand in 1000 Theilen:

| | |
|---|---|
| Feste Stoffe | 103,612, |
| Eiweiss | 73,789. |

---

Es existirt nun weiter eine Reihe von Fällen, bei denen in Folge von Zerreissung von Chylusgefässen Ergüsse von Chylus, oder nach vorhergegangenem Verschluss und Stauung in einem Chylusgefäss, ausgedehnte capillare Chylusaustritte in die Pleura- oder Peritonealhöhle beobachtet worden sind. Quincke[2]) hat zwei Fälle beschrieben, bei denen er den Aetherauszug der durch Punction entleerten Flüssigkeiten bestimmte; er fand für denselben:

| | |
|---|---|
| Fall I (Pleurahöhle) | 1,078 % bis 1,263 %, |
| Fall II (Bauchhöhle) | 1,68 % bis 1,87 %. |

Vergleicht man diese Zahlen mit dem Befund meiner Analyse, so zeigt sich eine recht gute Uebereinstimmung, denn ich erhielt als Aetherextract (Cholesterin + Lecithin + Fette) = 1,588 %.

---

1) Philos. Transact., 1842, S. 81.

2) Deutsch. Arch. f. klin. Medic., Bd. XVI, S. 121 ff.

Hoppe-Seyler[1]) lieferte eine sehr ausführliche Analyse eines Chylusergusses in die Bauchhöhle und bestimmte besonders genau die Zusammensetzung des Aetherextractes; vergleicht man die Ergebnisse dieser Bestimmung mit den bezüglichen von mir gefundenen Zahlen, so stellt sich ebenfalls eine Uebereinstimmung heraus, und zwar in den Werthen des Verhältnisses vom Lecithin : Cholesterin : Fett, von denen mir besonders das Verhältniss des Lecithin : Cholesterin wichtig zu sein scheint, da dieser Factor sich in jedem menschlichen Chylus wohl ziemlich gleich verhalten dürfte.

Hoppe-Seyler fand im Rückstand des Aetherextractes in 1000 Gewichtstheilen:

| | Lecithin. | Cholesterin. | Fette. |
|---|---|---|---|
| I. Punction . . . . . . . | 75,4 | 113,2 | 811,4 |
| II. Punction . . . . . . | 88,4 | 140,9 | 770,7 |
| Im Mittel . . . . . . . | 81,9 | 127,1 | 791,1 |
| Verhältniss . . . . . . . | 1 : | 1,6 : | 9,6 |

Nach meiner Analyse stellen sich die Verhältnisszahlen auf: 1 : 1,9 : 6,1.

Die Differenz in den Fetten ist wohl leicht erklärlich, da der Chylus im Peritonealraum immer fettreicher ist, wie sonst irgendwo im Körper, mithin hier fettreichere Chylusgefässe in Frage kommen müssen, als im Pericardialraum; sicher sind auch bei Quincke's Befunden die höheren Zahlen des II. Falles auf diesen Umstand zurückzuführen.

Mit der Annahme, dass wir es in dem Strassburger Fall mit einem Chyluserguss in den Pericardialraum zu thun haben, steht unsere Beobachtung ganz vereinzelt, wie es scheint, bis jetzt da; in Betreff seiner Entstehung dürfte dieser

1) Physiolog. Chemie, S. 597.

Fall sich den übrigen erwähnten Fällen anschliessen, dass es sich um eine Berstung eines Chylusgefässes, oder um einen capillaren Austritt von Chylus in Folge von Stauung gehandelt haben muss. Erscheinungen während des Lebens werden bei der geringen Menge, 22,7 cbcm., wohl kaum ausgeprägt gewesen sein, und ist der Befund an der Leiche wohl nur ein zufälliger gewesen. Immerhin ist es interessant, dass zu der etwas häufigeren Beobachtung des Chylothorax auch jetzt ein Fall von «Chylopericardium» hinzugekommen ist.

Rostock, Februar 1888.

# Ueber Acetanilid und Acettoluid und ihr Verhalten im thierischen Stoffwechsel.

Von

**Prof. M. Jaffe** und **Dr. med. Paul Hilbert.**

(Aus dem Laborarorium für medicinische Chemie und experimentelle Pharmaologie zu Königsberg i. Pr.)

(Der Redaction zugegangen am 20. Februar 1888.)

In seiner Arbeit über «das Verhältniss des Ammoniaks und der primären Monaminbasen zur Harnstoffbildung»[1]) machte Schmiedeberg die Mittheilung, dass das Anilin im Organismus der Hunde wahrscheinlich zu Paraamidophenol oxydirt und in gepaarter Verbindung mit Schwefelsäure ausgeschieden wird. Seitdem ist über die chemischen Umwandlungen, welche die Amidoderivate des Benzols im Thierkörper erfahren, nichts Weiteres bekannt geworden. Ein genaueres Studium derselben hielten wir aber um so mehr für geboten, als die $NH_2$-Gruppe unter Umständen die Schicksale aromatischer Atomcomplexe im thierischen Stoffwechsel in merkwürdiger Weise zu beeinflussen scheint. Während der Benzolkern für gewöhnlich im Organismus äusserst beständig und in den Producten, die nach Einführung der verschiedensten Benzolderivate im Harn auftreten, unverändert enthalten ist, zeigen einzelne aromatische Amidosäuren ein von dieser Regel abweichendes Verhalten. Es ist bekannt, dass Tyrosin (Oxyphenylamidopropionsäure) im Organismus nahezu vollständig zerstört wird; das Gleiche gilt für die Phenylamidopropion-

1) Archiv für experimentelle Pathol. u. Pharmakologie, Bd. VIII.

säure[1]) und, wie Baumann[2]) gefunden hat, für die α-Amidozimmtsäure ($C_6H_5CH : CNH_2CO_2H$). Ob diese Art der Zersetzung, wie Schotten[3]) vermuthet, nur denjenigen Amidosäuren der aromatischen Reihe zukommt, welche eine Seitenkette von 3 Kohlenstoffatomen enthalten, ob sie überhaupt nur bei Amidosäuren zu beobachten, oder auch bei Amidoderivaten von stärker ausgesprochenem, basischem Character möglich ist, muss durch weitere Untersuchungen noch entschieden werden.

Da die Amidobenzole Anilin, Toluidin etc. ziemlich giftig sind und in grösseren Quantitäten an Thiere nicht verfüttert werden können, so suchten wir das Studium dieser Verbindungen dadurch zu erleichtern, dass wir uns zunächst ihrer viel weniger giftigen, zum Theil ganz ungiftigen Acetylderivate bedienten. Durch die Einführung des Säurerestes wird freilich der Character der $NH_2$-Gruppe wesentlich verändert und ihr Einfluss auf das Verhalten der mit ihr verbundenen Atomencomplexe wahrscheinlich abgeschwächt; wir werden daher späterhin auf die Untersuchung der nicht substituirten Amidobenzole zurückkommen müssen.

Das Acetylderivat des Anilin (Antifebrin) hat in neuester Zeit eine grosse practische Wichtigkeit erlangt, seit es von Cahn und Hepp als fieberherabsetzendes Mittel in die Therapie eingeführt und sehr bald von anderer Seite als vortreffliches Nervinum gerühmt worden ist. In der That besitzt das Acetanilid in sehr bemerkenswerthem Grade die Fähigkeit, die Körpertemperatur herabzusetzen, und diese Wirkung tritt schon bei Dosen ein, welche die Functionen des Organismus sonst nicht nachweisbar stören.

Von den 3 isomeren Acetylderivaten des Toluidins ($C_6H_4{}^{CH_3}_{NH_2}$) ist das Paraacettoluid ohne jede Einwirkung, das Orthoacettoluid von sehr geringem und schnell vorübergehen-

---

1) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 10, S. 130.

2) Ibidem, Bd. 8, S. 60 ff.

3) L. c., S. 65.

dem Einfluss auf die Körpertemperatur, während das Meta-acettoluid, bei Kaninchen wenigstens, ebenso stark antipyretisch wirkt als das Antifebrin. Ob die Verschiedenheit des physiologischen Verhaltens der 3 Isomeren mit der Verschiedenheit ihrer chemischen Umwandlungen im Körper in Zusammenhang steht, wird sich aus den nachfolgend mitgetheilten Untersuchungen ergeben.

**Acetanilid.** $C_6H_5NHCH_3CO$.

Ueber die Umwandlungen, welche das Acetanilid im Thierkörper erleidet, liegen bis jetzt folgende Angaben vor:

Wendriner[1]) hat eine Vermehrung der Phenolausscheidung bei drei Phthisikern, welche täglich ca. 1 gr. Antifebrin erhielten, gefunden und auf 5,5 $^0/_{00}$, 11,3 $^0/_0$ und 13,3 $^0/_0$ des pro Tag aufgenommenen Antifebrins berechnet.

Wir gaben, um diese Angaben zu prüfen, einem Kaninchen, dessen Harn sich vor dem Versuche frei von Phenol erwies, 1 gr. Acetanilid, worauf sich deutliche Vergiftungserscheinungen mit Temperaturerniedrigung bis 33° einstellten und am nächsten Tage der Tod erfolgte. Der im Laufe des Tages gesammelte Urin wurde nach Versetzen mit Salzsäure destillirt, das Destillat gab keine Spur eines Niederschlages mit Bromwasser, enthielt also kein Phenol. Im Thierkörper findet demnach keine vermehrte Phenolausscheidung nach Acetanilid statt. Nach Anilinfütterung ist, wie Schmiedeberg (l. c.) nachgewiesen, die Phenolausscheidung ebenfalls nicht gesteigert.

Weitere Untersuchungen über die Ausscheidung des Acetanilid sind von Cahn und Hepp[2]) mitgetheilt. Dieselben behaupten, dass diese Substanz zum Theil unverändert den Organismus verlässt. Nach Fütterung eines Hundes mit 4 gr. Acetanilid haben sie den Urin auf dem Wasserbade eingeengt, mit Aether geschüttelt, die Aetherauszüge mit verdünnter Natronlauge, dann mit Schwefelsäure gewaschen und den Aether verdunstet. Sie erhielten Krystalle, die gereinigt einen

---

[1]) Allgemeine medicinische Central-Zeitung, 1887, No. 1.
[2]) Berliner klinische Wochenschrift, 1887, No. 1 und 2.

Schmelzpunkt von 113° hatten und mit Schwefelsäure im zugeschmolzenen Rohre erhitzt in Essigsäure und schwefelsaures Anilin zerfielen.

Wir haben den Urin eines Hundes nach Fütterung mit 4 gr. Acetanilid genau nach der Methode von Cahn und Hepp verarbeitet, aber keine Spur von Krystallen aus dem Aetherextract darstellen können. Desgleichen konnten wir in einem zweiten Falle nach Darreichung von 6 gr. kein unverändertes Acetanilid aus dem Harn wieder gewinnen. Dasselbe negative Resultat ergab die Harnuntersuchung bei einem andern Hunde, der an 4½ auf einander folgenden Tagen je 4 gr., im Ganzen 18 gr. Acetanilid erhalten hatte. Ohne die positiven Angaben von Cahn und Hepp in Zweifel ziehen zu wollen, glauben wir doch aus unseren Untersuchungen schliessen zu dürfen, dass unverändertes Acetanilid jedenfalls nur ausnahmsweise in den Harn übergeht.

Cahn und Hepp haben ferner das Verhalten der freien und gebundenen Schwefelsäure im Urin geprüft und eine geringe Vermehrung der letzteren gefunden. Müller[1]) constatirte nach Darreichung von Acetanilid ebenfalls eine Vermehrung der Aetherschwefelsäuren. Wenn es demnach nicht bezweifelt werden kann, dass ein Theil des Acetanilids resp. seines Derivates an Schwefelsäure gebunden den Organismus verlässt, so ist es doch sicher, dass daneben noch eine andere Art der Ausscheidung stattfindet. Wir fanden constant nach Acetanilidfütterung eine linksdrehende Substanz im Urin, welche bei Kaninchen schon nach kleinen Dosen (0,3—0,4 gr.) auftritt und bei fortschreitender Fütterung dauernd zunimmt. Der Urin eines Hundes, welcher am ersten Tage 4,0 gr. Acetanilid erhielt, zeigte 0,7 % Linksdrehung (am Soleil-Ventzke-schen Saccharimeter gemessen), am zweiten Tage nach weiteren 6 gr. 1,5 %, am dritten nach 9 gr. 2,3 % Linksdrehung. Ein anderer Hund zeigte bei Fütterung mit täglich 6 gr. (im Ganzen 21 gr.) nach einander 0,9 % — 1,6 % — 1,7 % Linksdrehung. Bei Kaninchen tritt dieselbe, wie gesagt, schon

[1]) Ueber Anilinvergiftung. Deutsche medicinische Wochenschrift. 1887, No. 2.

nach viel geringeren Gaben auf und steigt nach 2 bis 3 gr. über 2 %. Zugleich zeigte der Kaninchenurin beim Kochen mit Kali und Kupfersulfat eine sehr deutliche Reduction des Kupferoxyds, welche beim Hunde nicht zu beobachten ist.

Die mit steigender Dosis zunehmende Linksdrehung im Urin weist darauf hin, dass ein erheblicher Antheil des Acetanilids bei Kaninchen und Hunden in Form einer gepaarten Glycuronsäure ausgeschieden wird.

Unsere Versuche, dieselbe aus dem Harn rein darzustellen, sind bis jetzt trotz vieler Bemühungen erfolglos geblieben. Da es uns indess wesentlich darauf ankam, die an Glycuronsäure resp. Schwefelsäure gebundenen Stoffwechselproducte des Acetanilids kennen zu lernen, so glaubten wir von der Isolirung der gepaarten Säuren selbst vor der Hand Abstand nehmen und uns mit der Untersuchung ihrer Spaltungsproducte begnügen zu dürfen. Wir behalten uns indess vor, das Studium der Glycuron- und Schwefelsäureverbindungen demnächst wieder aufzunehmen.

Zur Darstellung der Spaltungsproducte der gepaarten Säuren wurden die einer längeren Fütterungsreihe entsprechenden Urine abgedampft, mit Alkohol extrahirt, die Alkoholextracte verdampft, der Rückstand mit Wasser und conctr. Salzsäure aufgenommen und am aufsteigenden Kühler einige Stunden gekocht. Nach dem Abkühlen wurde zunächst die saure Lösung dreimal mit Aether extrahirt, später dieselbe durch Zusatz von Kalilauge alkalisch gemacht und ebenfalls mehrmals mit Aether extrahirt. Die aus saurer und alkalischer Lösung gewonnenen Aetherextracte wurden gesondert untersucht und ergaben bei Hunden und Kaninchen wesentlich verschiedene Producte:

### A. Ausscheidung bei Hunden.

I. Die aus saurer Lösung erhaltenen Aetherauszüge werden grösstentheils abdestillirt, der Rest des Aethers im Becherglas bei Zimmertemperatur verdunstet. Der Rückstand erstarrt auf Zusatz von Wasser zu einem Brei von Krystallen. Dieselben werden durch wiederholtes Umkrystallisiren aus

heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle gereinigt. Aus concentrirter Lösung scheidet sich die Substanz in Büscheln von feinen, kurzen Nadeln aus, bei langsamem Erkalten verdünnterer Lösungen krystallisirt sie in zolllangen, wasserhellen, dünnen Prismen und Nadeln, die beim Trocknen schon an der Luft ihren Glanz verlieren und zerfallen. Im Exsiccator getrocknet, giebt die Substanz bei 100—105° kein Krystallwasser ab.

Die Substanz ist in heissem Wasser leicht, in kaltem sehr schwer löslich, leicht löslich in Alkohol und Aether, desgleichen wird sie durch Alkalien in der Kälte gelöst und aus dieser Lösung durch Säuren unverändert abgeschieden. Sie hat hiernach die Eigenschaften einer schwachen Säure. Ihre Lösung reagirt indess nicht auf Lakmus und giebt mit Eisenchlorid und Chlorkalk keine Färbung, dagegen beim Kochen mit Millon'schem Reagens schwache Rothfärbung. Sie schmilzt bei 138—139° C. und sublimirt bei vorsichtigem Erhitzen ohne Zersetzung.

Die Elementaranalyse ergab folgendes Resultat:

I. 0.2116 gr. Substanz, bei 105° getrocknet, gaben: 0,4845 $CO_2$ und 0.0801 $H_2O$, entsprechend 62,44 % C und 4,2 % H.

II. 0.2257 gr. (über Schwefelsäure getrocknet) gaben: 19,8 cbcm. N bei 12° C. und 783 mm. Hg, entsprechend 10,72 % N.

Die aus den gefundenen Werthen berechnete Molekularformel ist $C_7H_5NO_2$, für welche die procentische Zusammensetzung folgende ist: C 62,22 %, H 3,7 %, N 10,37 %, womit die Ergebnisse der Analysen ziemlich nahe übereinstimmen:

| | $C_7H_5NO_2$ Verlangt: | Gefunden: |
|---|---|---|
| C = | 62,22 % | 62,44 % |
| H = | 3.7 % | 4,2 % |
| N = | 10.37 % | 10.72 % |

Nach der Zusammensetzung und in allen ihren Eigenschaften stimmt unsere Substanz vollkommen mit einer Verbindung $C_7H_5NO_2$ überein, welche unter dem Namen o-Oxycarbanil zuerst von E. Grönvik[1]) beschrieben und durch

[1]) Sur l'action de l'éther chloroxycarbonique sur l'amidophenol. Referat darüber im Bull. de la soc. chimique. 1876. N. S. T. 25, p. 177 f.

Destillation von Oxyphenylurethan $CO{<}^{NHC_6H_4OH}_{OC_2H_5}$ dargestelllt worden ist.

Kalckhoff[1]) erhielt dieselbe Verbindung durch Erhitzen von Oxyphenylharnstoff und schrieb ihr die Constitution eines Oxycarbamidophenols $C_6H_4 < {}^{N}_{O} \gg C(OH)$ zu. Sandmeyer[2]), welcher auf anderem Wege zu der gleichen Substanz gelangte, die er als Oxymethenylorthoamidophenol bezeichnete, entschied sich für die Kalckhoff'sche Formel, während Bender[3]) und nach ihm Chetmicki[4]) auf Grund ihrer Untersuchungen zu einer anderen Auffasssung der Zusammensetzung gelangten. Nach diesen Autoren ist die Formel $C_6H_4 < {}^{NH}_{O} > CO$ vorzuziehen, wonach die fragliche Verbindung den Character eines Ketons besässe. Bender nannte sie Anhydroamidophenylkohlensäure, Chetmicki wählt die Bezeichnung Carbonylorthoamidophenol.

Es unterliegt keinem Zweifel, dass die unter so verschiedenen Namen beschriebenen, auf so verschiedenen Wegen erhaltenen Substanzen unter sich und, wie wir beweisen werden, mit derjenigen Verbindung identisch sind, welche wir nach Fütterung mit Acetanilid aus dem Hundeharn isolirten. Ob die Formel

$C_6H_4 < {}^{N}_{O} \gg C(OH)$ Kalckhoff oder

$C_6H_4 < {}^{NH}_{O} > CO$ Bender-Chetmicki

die richtige ist, wagen wir natürlich nicht zu entscheiden, doch glauben wir, dass die von uns gefundene Entstehung der Verbindung durch Oxydation des Acetanilids im Thierkörper sich ungezwungen im Sinne der Kalckhoff'schen Formel erklären lässt.

Das o-Oxycarbanil (dieser Bezeichnung wollen wir uns im Folgenden als der ältesten und kürzesten unter den zahl-

[1]) Chemische Berichte, Bd. 16, S. 1835.
[2]) Ibid., Bd. 19, S. 2656.
[3]) Ibid., Bd. 19, S. 2269, 2951.
[4]) Ibid., Bd. 20, S. 177.

reichen Synonymen bedienen) ist ein Derivat des Orthoamidophenols, denn es zerfällt beim Erhitzen mit $NH_3$, wie Kalckhoff gefunden, in Kohlensäure und Orthoamidophenol:

$$C_6H_4 < {N \atop O} \gg COH + H_2O = C_6H_4{NH_2 \atop OH} + CO_2.$$

Die Amidophenole der Orthoreihe[1]), welche ein Säureradical in der Amidogruppe enthalten, haben bekanntlich die Eigenthümlicheit, dass sie sehr leicht Wasser abspalten, um zu sog. Anhydroverbindungen zu werden. Dabei wird der Wasserstoff aus der Amid- und Hydroxylgruppe des Phenols, der Sauerstoff aus dem Säureradical entnommen.

So entsteht z. B. aus Benzoylorthoamidophenol durch Austritt von Wasser Benzenylamidophenol:

$$C_6H_4{NHCOC_6H_5 \atop OH} - H_2O = C_6H_4{N \atop O} \gg C(C_6H_5).$$

Ganz analog diesem Vorgang denken wir uns die Entstehung des Oxycarbanils im Thierkörper: Das Acetanilid $C_6H_5NHCH_3CO$ geht durch Oxydation der Acetylgruppe zu COOH, des Anilinrestes zu Orthoamidooxyphenyl zunächst in eine Verbindung über von der Zusammensetzung $C_6H_4 < {NHCOOH \atop OH}$ (Oxyphenylcarbaminsäure?), welche dann unter Austritt von Wasser sich sofort in Orthooxycarbanil umwandelt:

$$C_6H_4{NHCOOH \atop OH} - H_2O = C_6H_4 < {N \atop O} \gg C(OH).$$

Um die Identität der aus dem Harn extrahirten Verbindung $C_7H_5NO_2$ mit o-Oxycarbanil sicher zu stellen, musste vor Allem bewiesen werden, dass sie beim Erhitzen mit $NH_3$ entsprechend der Kalckhoff'schen Reaction o-Amidophenol abspaltet. Wir haben deshalb ca. 1 gr. unserer Substanz mit 15 cbcm. Ammoniakflüssigkeit im geschlossenen Rohre mehrere Stunden einer Temperatur von 140—150° ausgesetzt. Nach dem Oeffnen des Rohres wurde die braungefärbte ammoniakalische Lösung mehrmals mit Aether extrahirt, die

---

1) Vergl. Fehling's Handwörterbuch der Chemie, Bd. 5, S. 56.

Aetherauszüge verdunstet und der Rückstand in folgender Weise gereinigt[1]): Er wurde in heissem Schwefelwasserstoffwasser gelöst, mit Thierkohle entfärbt, das Filtrat sofort durch Schnee abgekühlt, das ausgeschiedene farblose Krystallpulver schnell filtrirt, mit etwas eiskaltem Wasser gewaschen und über $H_2SO_4$ im Exsiccator getrocknet. Die Anwesenheit des Schwefelwasserstoffs verhindert die sonst beim Umkrystallisiren des Amidophenols aus heissem Wasser schnell auftretende Braunfärbung und Zersetzung.

Die Krystalle, welche, wie wir uns überzeugten, schwefelfrei waren, liessen sich, einmal getrocknet, unverändert aufbewahren. Sie zeigten unter dem Mikroskop wohl ausgebildete Formen rhombischer Tafeln und flacher Prismen. Die Substanz sublimirt in farblosen Blättchen, im Capillarröhrchen erhitzt beginnt sie bei 150—155° sich zu bräunen und schmilzt bei 171—173°.

Die mit einem Tropfen Salzsäure versetzte Lösung der Krystalle giebt mit:

Eisenchlorid[2]): zunächst violette, dann braune Färbung;
Chlorkalk: rothe, dann braune Färbung und braunen Niederschlag;
Kaliumbichromat: braune Färbung, etwas ins Grünliche spielend.

---

1) Dieselbe Methode wurde in allen folgenden Versuchen zum Umkrystallisiren der Amidophenole benutzt.

2) F. A. Kalckhoff, Zur Kenntniss der Amidophenole, Chemische Berichte, Bd. 16, S. 1833, giebt folgende Reactionen der salzsauren Amidophenole in sehr verdünnten Lösungen an:

| | Ortho- | Para- | Meta- |
|---|---|---|---|
| Eisenchlorid. | Im ersten Augenblick violette, dann braune Lösung. | Hochviolette Lösung. | Braungelbe Lösung. |
| Kaliumbichromat. | Braune Lösung. | Dunkler, flockiger Niederschlag; braunviolette Lösung. | Dunkelbraune Lösung. |
| Chlorkalk. | Lös. durch violett u. roth in braun übergehend. dunkler flockig. Niederschlag. | Lös. durch grün in gelb übergehend. Chinongeruch. | Rothbraune Lösung. |
| Ammoniak und Silbernitrat. | Braunschwarzer, flockig. Niederschlag. | Grauer, pulveriger Niederschlag; violette Lösung. | Grauer, pulveriger Niederschlag; grüne Lösung. |

Die Indophenolreaction, welche von den 3 isomeren Amidophenolen nur Paraamidophenol giebt, zeigte die Substanz nicht.

Die Elementaranalyse der über $H_2SO_4$ getrockneten Substanz gab folgende, mit der Formel des Amidophenols $C_6H_7NO$ übereinstimmende Zahlen:

1. 0,2100 gaben: 0,5072 $CO_2$ und 0,1306 $H_2O$, entsprechend 65,87% C und 6,9% H.
2. 0.2326 gaben: 24,2 cbcm. N bei 19° C. und 767,5 mm. Hg, entsprechend 12,1% N.

| | | Amidophenol $C_6H_7NO$ verlangt: | gefunden: |
|---|---|---|---|
| C | = | 66,05% | 65,87% |
| H | = | 6,4% | 6,9% |
| C | = | 12,8% | 12,1% |

Die angeführten Reactionen stimmen mit den von Kalckhoff angegebenen Eigenschaften des Orthoamidophenols überein, dessen Schmelzpunkt (170°) dem unserer Verbindung (171—173°) sehr nahe liegt. Es unterliegt hiernach keinem Zweifel, dass das oben beschriebene Derivat des Acetanilid beim Erhitzen mit $NH_3$ in Orthoamidophenol übergeht und mit Oxycarbanil identisch ist.

Um noch einen weiteren Beweis für diese Identität zu liefern, haben wir die Substanz durch Erhitzen mit Essigsäureanhydrid in ein Acetylderivat verwandelt, welches in farblosen, in Wasser schwer löslichen Blättchen krystallisirte, deren Schmelzpunkt bei 92—93° C. lag. (Das Acetyloxycarbanil schmilzt nach Kalckhoff bei 95° und krystallisirt ebenfalls in Blättchen.)

II. Die Aetherauszüge aus der alkalisch gemachten Lösung des mit Salzsäure gekochten Harnextractes (cf. S. 299) hinterliessen nach Abdestilliren des Aethers nur einen geringen Rückstand, aus welchem sich bei Wasserzusatz Krystalle in geringer Menge ausschieden. Dieselben wurden in verdünnter Salzsäure gelöst, von den harzigen Rückständen abfiltrirt, die Lösung auf dem Wasserbade verdampft und der Rückstand

mit destillirtem Wasser aufgenommen. Die gelblich gefärbte Lösung gab folgende Farbenreactionen: mit

Eisenchlord: hochviolett;
Chlorkalk: violett, später roth;
Kaliumdichromat: intensiv braun, dann braunviolett mit braunem Niederschlag.

Mit einigen Tropfen Salzsäure, Carbolsäure und Chlorkalk versetzt, gab die Lösung eine rothe Färbung, welche auf Ammoniakzusatz tief blau wurde (Indophenolreaction).

Die aus der alkalischen Lösung gewonnene Substanz ist mithin wahrscheinlich Paraamidophenol, vielleicht gemischt mit etwas Orthoamidophenol. Zu einer Elementaranalyse war die Menge nicht ausreichend.

Das Acetanilid wird also von Hunden ausgeschieden zum grössten Theil als o-Oxycarbanil, zum kleineren als Paraamidophenol, beide an Glycuronsäure resp. Schwefelsäure gebunden. Wie wir uns den Vorgang der Oxycarbanilbildung erklären, wurde bereits oben S. 302 auseinandergesetzt.

Es muss vorläufig unentschieden bleiben, ob das Oxycarbanil als solches oder sein Hydrat, die Oxyphenylcarbaminsäure, in der Verbindung mit Glycuron- oder Schwefelsäure enthalten ist. Das letztere ist, entsprechend der Constitution anderer gepaarter Phenolderivate, wahrscheinlicher; die Synthese würde hiernach in der gewöhnlichen Weise an der Hydroxylgruppe des Phenols stattgefunden haben. Bei der Zersetzung mit Salzsäure geht dann die abgespaltene Oxyphenylcarbaminsäure, die in freiem Zustande nicht existiren kann, sofort in ihr Anhydrid, das Oxycarbanil, über.

## B. Ausscheidung bei Kaninchen.

Der nach Fütterung von 3 Kaninchen mit zusammen 15 gr. Acetanilid gesammelte Urin wurde in derselben Weise behandelt wie der Hundeharn. Die Aetherauszüge aus saurer Lösung hinterliessen einen nur geringen krystallinischen Rückstand, dessen Menge nach dem Umkrystallisiren so abnahm, dass nicht einmal eine Schmelzpunktbestimmung gemacht werden konnte.

Die Aetherauszüge aus der alkalisch gemachten Lösung waren stark braun gefärbt und schieden schon während des Abdestillirens eine grosse Menge glänzender Krystallblättchen (ca. 1 gr.) aus. Eine gleiche Menge wurde durch Verdunsten des abfiltrirten Aethers bei Zimmertemperatur gewonnen. Die Krystallmasse war braun gefärbt.

Durch Kochen mit Thierkohle wird sie entfärbt, das Filtrat färbt sich jedoch an der Luft sehr bald wieder braun. Erst durch Umkrystallisiren aus heissem Schwefelwasserstoffwasser nach der oben (S. 303) beschriebenen Methode konnte die Verbindung, freilich unter sehr bedeutenden Verlusten, schliesslich farblos erhalten werden.

Die reine Substanz krystallisirt in farblosen Blättchen, welche in Alkohol und Aether leicht, in kaltem Wasser schwer löslich sind. Sie sublimirt grösstentheils unzersetzt und schmilzt bei 171—172°, beginnt aber bereits bei 140—150° sich unter Braunfärbung zu zersetzen.

Die salzsaure Lösung der Krystalle gab folgende Farbenreactionen: mit

Eisenchlorid: hochviolett;

Chlorkalk: 1 Tropfen violett, dann braun; mehr Chlorkalk: hellgrün;

Kaliumdichromat: braunviolett, dann braun mit flockigem Niederschlag;

Ammoniak: prachtvoll violett;

Kalilauge: violett, dann braun.

Die Substanz zeigt ferner eine ausgezeichnete Indophenolreaction.

Die Elementaranalyse ergab für unsere Verbindung die Zusammensetzung eines Amidophenols:

I. 0,164 gr. im Exsiccator getrocknet, etwas bräunlich. gaben: 0,3991 $CO_2$ und 0,1098 $H_2O$, entsprechend 66,37 % C und 7,4 % H.

II. 0,0993 gr. im Exsiccator getrocknet, farblos, gaben: 11,4 cbcm. N bei 21,5° C. und 765 mm. Hg, entsprechend 13,12 % N.

| | Amidophenol $C_6H_7NO$ verlangt: | gefunden: |
|---|---|---|
| C = | 66,05 % | 66,37 % |
| H = | 6,4 % | 7,3 % |
| N = | 12,8 % | 13,12 % |

Nach den oben angeführten Reactionen (vergl. Kalckhoff a. a. O.) ist die Verbindung Paraamidophenol.

Kaninchen scheiden also das Acetanilid zum grössten Theile als Paraamidophenol mit Glycuron- resp. Schwefelsäure gepaart aus. Die Acetylgruppe wird dabei vollständig zerstört und losgelöst. Eine der Oxycarbanilbildung bei Hunden analoge Umwandlung findet hier nicht statt.

---

Welche Zersetzungen Acetanilid im menschlichen Organismus erleidet, haben wir nicht untersucht. Müller, welcher in einem Falle von Anilinvergiftung im Urin Anilin[1]) und Paraamidophenol fand, untersuchte im Anschluss daran den Harn mit Antifebrin behandelter Patienten und constatirte in demselben Paraamidophenol, dessen Nachweis freilich nur auf die Indophenolreaction gestützt wurde.

**Die Acetylderivate des Toluidins.**

I. Paraacettoluid, $C_6H_4\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{NHCH_3CO}$. Schmelzpunkt 147°; Siedepunkt 307°.

Diese Verbindung ist absolut ungiftig. Kaninchen vertragen 2 gr., Hunde 6 gr. mehrere Tage hinter einander, ohne irgend welche Veränderungen zu zeigen. Auf die Körpertemperatur übt sie keinen Einfluss; zuweilen traten geringe Schwankungen derselben ein, welche jedoch nach ein bis zwei Stunden vollkommen ausgeglichen waren. Der Urin enthielt nach Fütterung mit Paraacettoluid weder Eiweiss noch Zucker, noch zeigte er eine Drehung der Ebene des polarisirten Lichtes.

---

[1]) Thiere scheiden kein unverändertes Anilin aus! cf. Schmiedeberg, l. c.

Paraacettoluid wird von Kaninchen wie Hunden nahezu vollständig als Paraacetylamidobenzoesäure $C_6H_4{COOH \atop NH\,CH_3CO}$ ausgeschieden. Dieselbe bildet im Urin keine gepaarte Verbindung, sondern ist als Salz in ihm enthalten. Aus Kaninchenurin fällt sie nach Zusatz concentrirter Salzsäure sofort oder nach kurzer Zeit vollständig aus. Aus Hundeurin gewinnt man sie erst, wenn man die mit verdünnter Schwefelsäure aufgenommenen Alkoholextracte mit Aether schüttelt, wobei ein kleiner Theil in den Aether übergeht, der grössere sich in der wässrig-sauren Lösung krystallinisch ausscheidet.

Die Paraacetylamidobenzoesäure ist in Wasser sehr wenig, in Aether schwer, in Alkohol leichter löslich. Sie krystallisirt aus heissem Wasser in farblosen feinen Nadeln, welche bei 248—250° unter theilweiser Zersetzung schmelzen.

### Analysen.

Substanz aus Alkohol umkrystallisirt.

1. 0,2849 gr. bei 110° getrocknet, gaben 0,6282 $CO_2$ und 0,1322 $H_2O$, entsprechend 60,13 % C und 5,14 % H.
2. 0,297 gr. bei 110° getrocknet. gaben 19,8 cbcm. N bei 13,7° C. und 755 mm. Hg minus 56 mm. $H_2O$, entsprechend 7,75 % N.

Acetylamidobenzoesäure $C_9H_9NO_3$

| | | verlangt: | gefunden: |
|---|---|---|---|
| C | = | 60,33 % | 60,13 % |
| H | = | 5,05 % | 5,14 % |
| N | = | 7,82 % | 7,75 % |

Acetylamidobenzoesaures Silber $C_6H_4{COO\,Ag \atop NHC_2H_3O}$, aus dem Ammoniaksalz durch Silbernitrat gefällt, lange seidenglänzende Nadeln.

0,2286 gr. gaben 0,0863 Ag = 37,75 %,
berechnet: 37,76 %.

Durch Erhitzen mit Salzsäure im zugeschmolzenen Rohr auf ca. 140° C. zerfiel die Acetylamidobenzoesäure in Essigsäure und Paraamidobenzoesäure. Letztere schied sich als Salzsäureverbindung beim Erkalten des Rohres in schönen

blättrigen Krystallen aus, welche durch eine Chlorbestimmung identificirt wurden.

0,454 gr. bei 110° getrocknet, gaben 0,3783 AgCl,
entsprechend 20,61 % Cl,
berechnet: 20,46 % Cl.

Die Säure ist vollkommen identisch mit der Paraacetylamidobenzoesäure, welche A. W. Hoffmann[1]) durch Oxydation des Paraacettoluid mit übermangansaurem Kali erhalten hat.

Um annähernd quantitativ zu bestimmen, wieviel Paraacetylamidobenzoesäure Kaninchen ausscheiden, filtrirten wir einen gemessenen Theil des nach der Fütterung gesammelten Urins, versetzten das Filtrat mit conctr. Salzsäure und liessen es ca. 24 Stunden stehen. Die ausgeschiedenen Krystalle wurden auf ein gewogenes Filter gebracht, gut ausgewaschen, bei 105° getrocknet und gewogen. Wir fanden, dass ein Kaninchen nach 1 gr. Paraacettoluid 0,8 gr., ein anderes nach 2 gr. Paraacettoluid 1,65 gr. Acetylamidobenzoesäure ausgeschieden hatte. In beiden Fällen wurden also ca. $^2/_3$ der berechneten Menge gewonnen. Doch ist die Umwandlung thatsächlich wohl eine grössere, da unsere Bestimmungsmethode Verluste nicht ausschliesst und überdies das äusserst schwer lösliche Acettoluid im Darmcanal wahrscheinlich nicht vollständig zur Resorption gelangt.

II. Orthoacettoluid, $C_6H_4{}^{CH_3}_{NH\,CH_3CO}$, Schmelzpunkt 107°, Siedepunkt 296°, wurde durch Kochen gleicher Mengen Orthotoluidin und conctr. Essigsäure am aufsteigenden Kühler dargestellt und durch Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol gereinigt. Es bildet lange nadelförmige Krystalle.

Während das isomere Paraacettoluid ganz ungiftig ist, erwies das Orthoacettoluid sich als höchst giftig. Auf die Temperatur, welcher wir zunächst unsere Aufmerksamkeit schenkten, übte es keinen Einguss; nur zuweilen fiel dieselbe bald nach Verabreichung des Orthoacettoluid um 0,5° bis 1,5°,

[1]) Chemische Berichte, Bd. IX, S. 1302.

um jedoch in kurzer Zeit zur Norm zurückzukehren. Dagegen äusserte es erhebliche Wirkung auf die Function der Nieren. Kaninchen, welche mit 1 gr. pro die gefüttert wurden, zeigten bereits am 2. bis 3. Tage viel Blut und Eiweiss im Urin, am 4. Tage reichliche hyaline und Blutcylinder, bei fortgesetzter Fütterung trat bald der Tod ein. Von 3 anderen Kaninchen, welchen täglich 0,5 gr. Orthoacettoluid mittelst Schlundsonde beigebracht wurde, enthielt der Urin am 3. Tage Eiweiss, am 5. Blutkörperchen und Blutcylinder; am 7. bis 8. Tage starben die Thiere. Die Section ergab in allen Fällen das nämliche Resultat: Die Blasenschleimhaut war intact; die Nieren beträchtlich vergrössert, von blassgelblicher Farbe. Frisch untersucht zeigten sie starke Verfettung der Epithelien, die gewundenen Harncanälchen in grosser Ausdehnung ausgefüllt mit frischen hyalinen und Blutcylindern. In Picrocarmin gefärbte Schnitte des in Alkohol erhärteten Organs zeigten den grössten Theil der Harncanälchen ausgefüllt mit Epithelial- und hyalinen Cylindern. Das Epithel der Harncanälchen war grösstentheils in nekrotischem Zerfall begriffen. An einigen Stellen war das interstitielle Gewebe von weissen Blutkörperchen durchsetzt.

Der Process in der Niere ist demnach als Nephritis acuta desquamativa zu bezeichnen.

Bei Hunden waren intra vitam dieselben Erscheinungen zu beobachten. Ein grosser Jagdhund, welcher täglich 3 gr. Orthoacettoluid in Gelatinekapseln erhielt, hatte am vierten Tage viel Eiweiss und Gallenfarbstoff im Urin, am fünften Tage eine grosse Menge von Blutcylindern, worauf die Fütterung ausgesetzt wurde.

Orthoacettoluid erzeugt also bei Hunden und Kaninchen nach verhältnissmässig geringen Gaben acute Nephritis.

Die Umwandlung, welche das Orthoacettoluid im Thierkörper erleidet, ist wesentlich verschieden von der des Paracettoluid. Aus den Aetherauszügen des Harns liess sich keine Spur einer Acetylamidobenzoesäure isoliren. Bei Kaninchen trat schon nach 0,5 gr. eine Linksdrehung der Ebene des polarisirten Lichtes um 0,5 % (am Soleil-Ventzke'schen

Saccharimeter gemessen) ein, welche sich bei fortgesetzter Fütterung auf 0,8 % bis 1,1 % steigerte; zugleich zeigte sich eine sehr kräftige und schon nach gelindem Erwärmen eintretende Reduction von Kupferoxyd. Dabei ergab die mehrfach angestellte Gährungsprobe stets ein negatives Resultat. Hunde zeigten ebenfalls eine bei fortgesetzter Fütterung zunehmende Linksdrehung im Harn, aber eine nur geringe Reduction. Es ist hiernach wahrscheinlich, dass Orthoacettoluid ebenso wie Acetanilid in Form einer gepaarten Glycuronsäure den Körper verlässt (ob auch als gepaarte Schwefelsäure, wurde nicht untersucht). Dieselbe geht zu einem kleinen Theil in den Aetherauszug, zu einem grösseren in den Essigätherauszug über, doch gelang ihre Isolirung nicht. Es wurden daher in gleicher Weise wie früher bei Acetanilid die Spaltungsproducte der gepaarten Verbindung untersucht; zu diesem Zwecke wurden die der Orthoacettoluid-Fütterung entsprechenden Urine abgedampft, mit Alkohol extrahirt, die Alkoholextracte verdampft, der Rückstand mit Wasser und conctr. Salzsäure aufgenommen und am aufsteigenden Kühler 4 Stunden lang erhitzt; nach dem Abkühlen mit Aether mehrmals ausgeschüttelt, sodann durch Zusatz von Kalilauge alkalisch gemacht und die alkalische Lösung ebenfalls mit Aether extrahirt. Die Untersuchung beschränkte sich auf Hunde, weil Kaninchen zu empfindlich waren gegen die Giftwirkung des Orthoacettoluids und keine für die Darstellung der Stoffwechselproducte ausreichenden Quantitäten vertrugen.

Der aus der alkalischen Lösung gewonnene Auszug hinterliess nach dem Verdunsten einen geringen öligen Rückstand, welcher nicht zur Krystallisation zu bringen war und keine characteristischen Reactionen gab.

Der Rückstand des mit der salzsauren Lösung geschüttelten Aethers erstarrte auf Wasserzusatz zu einem Brei von Krystallen, welche abfiltrirt und aus heissem Wasser unter Anwendung von Thierkohle umkrystallisirt wurden.

Aus dem Urin eines Hundes, welcher 12 gr. Orthoacettoluid in täglichen Dosen von 2—3 gr. erhalten hatte, gewannen wir 2,6 gr. reiner Substanz, was unter Berücksich-

tigung der unvermeidlichen Verluste beim Umkrystallisiren etc. einer Ausbeute von mindestens 4 gr., also ca. $33^1/_3$ % der verfütterten Substanz entsprechen dürfte.

Die reine Verbindung krystallisirt in bis 1 cm. langen, sehr zarten weissen Nadeln. In kaltem Wasser ist sie schwer, in heissem Wasser, sowie in Alkohol und Aether leicht löslich. Im trocknen Reagensglase erhitzt, schmilzt sie und sublimirt vollständig. In verdünnten Alkalien ist sie leicht löslich und wird aus dieser Lösung durch Säuren unverändert abgeschieden. Die heisse wässerige Lösung reagirt nicht auf Lakmuspapier, mit Millon'schem Reagens giebt dieselbe einen farblosen Niederschlag, welcher beim Kochen seine Farbe nicht verändert. Schmelzpunkt der im Exsiccator getrockneten Substanz 158—159°.

## Analysen.

1. 0,188 gr. (im Exsiccator getrocknet) gaben 0,4461 $CO_2$ und 0,0928 $H_2O$ = 64,71 % C und 5,48 % H.
2. 0,2558 gr. (im Exsiccator getrocknet) gaben 0,6035 $CO_2$ und 0,1246 $H_2O$ = 64,34 % C und 5,41 % H.
3. 0,2017 gr. (im Exsiccator getrocknet) gaben 0,4760 $CO_2$ und 0,1024 $H_2O$ = 64,36 % C und 5,64 % H.
4. 0,2190 gr. (bei 105° getrocknet) gaben 19,3 cbcm. N bei 23° C. und 773 mm. Hg = 10,1 % N.
5. 0,2050 gr. (im Exsiccator getrocknet) gaben 16,8 cbcm. N bei 15,3° C. und 758 mm. Hg = 9,55 % N.

Aus diesen Zahlen berechnet sich die Formel $C_8H_7NO_2$.

| | | Verlangt: | Gefunden: | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | = | 64,42 % | 64,71; | 64,34; | 64,36. |
| H | = | 4,7 % | 5,48; | 5,41; | 5,64. |
| N | = | 9,4 % | 10,1; | 9,55. | |

Das Verhalten der Verbindung ist dem des o-Oxycarbanil (s. o.) in jeder Beziehung analog; es war daher von vornherein wahrscheinlich, dass ihr die Structurformel

$$C_6H_3 \left\langle \begin{matrix} CH_3 \\ N \\ O \end{matrix} \right. \!\!> COH$$

zukommt, dass sie also als Methyloxycarbanil (s. Oxycarbamidokresol) aufzufassen ist. Das weitere Studium der Substanz machte diese Vermuthung zur

Gewissheit. Erhitzt man sie nämlich mit Ammoniak im zugeschmolzenen Rohr mehrere Stunden auf 130—140°, so wird sie unter Aufnahme von $H_2O$ in $CO_2$ und Amidomethylphenol (Amidokresol) gespalten. Letzteres schied sich in unserem Versuche beim Erkalten des Röhreninhaltes zum Theil in Krystallblättchen aus, zum Theil wurde es dem ammoniakalischen Filtrat durch Ausschütteln mit Aether entzogen. Beide Antheile wurden vereinigt und aus heissem Schwefelwasserstoffwasser unter Anwendung von Thierkohle umkrystallisirt. In dieser Weise erhielten wir die Substanz in farblosen, mikroskopischen Krystallen, die sich in trocknem Zustande unverändert aufbewahren liessen.

Ihr Schmelzpunkt liegt bei 148—150°, vorsichtig erhitzt sublimirt sie in farblosen glänzenden Blättchen; die mit verdünnter Salzsäure schwach angesäuerte Lösung der Krystalle wird durch Eisenchlorid rothviolett, durch Chlorkalk roth und durch Kaliumbichromat braunviolett gefärbt.

Die Elementaranalyse der über $H_2SO_4$ bis zur Gewichtsconstanz getrockneten Verbindung ergab Zahlen, welche mit der Formel eines Amidokresols gut übereinstimmten.

1. 0,1973 Substanz gaben 0,4976 $CO_2$ und 0,1371 $H_2O$, entsprechend 68,78 % C und 7,74 % H.
2. 0,1954 Substanz gaben 18,9 cbcm. N bei 13,8° C. und 761,5 mm. Hg, entsprechend 11,4 % N.

Die Formel $C_7H_9NO$

| | | verlangt: | gefunden: |
|---|---|---|---|
| C | = | 68,29 % | 68,78 % |
| H | = | 7,3 % | 7,74 % |
| N | = | 11,38 % | 11,4 % |

Bisher sind unseres Wissens in der Literatur folgende isomere Amidokresole beschrieben worden:

1. Amidokresol von Wallach[1]), dem die Formel

$$C_6H_3\begin{matrix} CH_3 & 1 \\ OH & 2 \\ NH_2 & 4 \end{matrix}$$

zugeschrieben wird. Schmelzpunkt 159—161°.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm., Bd. 215, S. 91.

Mit diesem identisch ist das von Nölting und Collin[1]) durch Reduction von Nitroorthokresol erhaltene Amidokresol.

2\. Amidokresol von Knecht[2]). Formel $C_6H_3\begin{array}{l} CH_3\ 1 \\ NH_2\ 2. \\ OH\ 4 \end{array}$ Schmelzpunkt 144,5°.[3])

3\. Amidokresol von Nölting und Cohn[4]): $C_6H_3\begin{array}{l} OH\ 1 \\ CH_3\ 4. \\ NH_2\ 2 \end{array}$ Schmelzpunkt 135°.

4\. Amidokresol: $C_6H_3\begin{array}{l} OH\ 1 \\ NH_2\ 4. \\ CH_3\ 2 \end{array}$ Schmelzpunkt 172—173°, von Nölting und Cohn[5]) aus Azoorthokresolverbindungen und durch Reduction von Nitrosoorthokresol erhalten.

5\. Amidometakresol: $C_6H_3\begin{array}{l} OH\ 1 \\ CH_3\ 3. \\ NH_2\ 4 \end{array}$ Schmelzpunkt 151°, von Nölting und Cohn[6]) aus Azometakresol erhalten.

6\. Amidokresol von Ullmann[7]): $C_6H_3\begin{array}{l} CH_3\ 1 \\ NH_2\ 2. \\ OH\ 6 \end{array}$ Schmelzpunkt 124—128°.

7\. Paraamidoorthokresol von R. Hirsch[8]). Schmelzpunkt 175°.

Das Amidokresol, welches wir durch Einwirkung von $NH_3$ auf das Stoffwechselproduct des Orthoacettoluid erhalten haben, stimmt nach seinem Schmelzpunkt (148—150°) am meisten mit dem bei 151° schmelzenden Amidometakresol

---

1) Chem. Berichte, Bd XVII, S. 268.
2) Ibid., Bd. XV, S. 2831.
3) Nach Maassen. Ber., Bd. XVIII, S. 1511.
4) Chem. Berichte, Bd. XVII, S. 360.
5) L. c.
6) L. c.
7) Chem. Berichte, Bd. 17, S. 1957.
8) Ibid., Bd. 18. S. 1511.

von Nölting und Cohn überein, welches sich vom Orthotoluidin ableitet; doch ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass es mit dem bei 144,5° schmelzenden Amidokresol von Knecht identisch ist, welches die $CH_3$- und $NH_2$-Gruppe gleichfalls in der Orthostellung besitzt.

Jedenfalls ist es sicher, dass das im Thierkörper entstehende Umwandlungsproduct des Orthoacettoluid beim Erhitzen mit $NH_3$ ein Amidokresol liefert, welches sich vom Orthotoluidin ableitet, und dass es somit als Methyloxycarbanil oder Oxycarbamidokresol $C_6H_3 \left\langle \begin{matrix} CH_3 \\ N \\ O \end{matrix} \right. \!\!> COH$ aufzufassen ist. Eine Verbindung von dieser Zusammensetzung ist bisher, soviel uns bekannt, nicht beschrieben worden.

Das Methyloxycarbanil findet sich im Hundeharn offenbar in ganz analoger Verbindung mit Glycuronsäure wie das Oxycarbanil nach Fütterung mit Acetanilid.

Es ist somit die Umwandlung, welche das Orthoacettoluid im Organismus erfährt, ganz entsprechend der des Acetanilids, aber gänzlich abweichend von der Umwandlung des Paraacettoluids.

III. Metaacettoluid. Schmelzpunkt 65,5° C.; Siedepunkt 303°.

Diese Verbindung erhielten wir in der gewöhnlichen Weise aus Metatoluidin, welches von Schuchardt in Görlitz bezogen war. Da sie eine grosse Neigung besitzt, sich aus ihren Lösungen als Oel abzuscheiden, so gelang ihre Reindarstellung nur schwer. Am besten wird sie aus einem Gemische von Alkohol und Benzol (1 : 3—4) umkrystallisirt, aus welchem sie sich allmählich in farblosen, silberglänzenden Blättchen absetzt. Der Schmelzpunkt unseres Präparates lag bei 66—67°.

Das Metaacettoluid, mit welchem wir übrigens wegen der Kostbarkeit des Materials nur wenige Versuche anstellen konnten, ist bei Kaninchen in täglichen Dosen von 1 gr., bei Hunden in Dosen von 3 gr. pro die völlig ungiftig. Die

Körpertemperatur wird bei Kaninchen schon durch Gaben von 0,5 gr. in bemerkenswerther Weise und ohne jede Störung des Befindens herabgesetzt.

### I. Versuch.

Grosses Kaninchen. Temp. 39,8° C.

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1 Uhr | 45 Min. | | 0,5 gr. Metaacettoluid. |
| 1 » | 53 » | | Temp. 38,1°. |
| 2 » | 5 » | | » 37.0°. |
| 3 » | 45 » | | » 35,4°. |
| 5 » | 20 » | | » 36,2°. |
| 6 » | 45 » | | » 38,0°. |
| | | 0,5 gr. Metaacettoluid. | |
| 7 » | 30 » | | » 36,8°. |
| 8 » | 30 » | | » 36,0°. |

### II. Versuch.

Grosses Kaninchen. Temp. 40,1°.

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1 Uhr | 40 Min. | | 0,5 gr. Metaacettoluid. |
| 1 » | 45 » | | Temp. 39,2°. |
| 2 » | — » | | » 38,3°. |
| 3 » | 50 » | | » 38,3°. |
| 6 » | 50 » | 0,5 gr. | » 39,9°. |
| 7 » | 36 » | | » 38,8°. |
| 8 » | 26 » | | » 38,5°. |

Der Urin zeigte nach Fütterung mit Metaacettoluid starke Linksdrehung, war aber frei von Eiweiss und sonstigen pathologischen Bestandtheilen. Die Isolirung der die Linksdrehung bedingenden gepaarten Verbindungen haben wir nicht versucht; die Untersuchung der beim Erhitzen mit Salzsäure auftretenden Spaltungsproducte ergab leider keine analysirbaren Substanzen. Aus der sauren Lösung extrahirte Aether ein Oel, welches auch nach wochenlangem Stehen unter Wasser nicht krystallisirte, und die alkalisch gemachte Lösung gab an Aether eine Substanz ab, welche nach Verdunsten des Lösungsmittels als schwarze, amorphe, in Alkohol mit schön rother Farbe lösliche Masse zurückblieb. Die letztere ist vielleicht ein Zersetzungsproduct eines Amidokresols, welches zu näheren Untersuchungen nicht einladend war.

Wenn somit ein Theil des verfütterten Metaacettoluids, wie es scheint, analog dem Orthoacettoluid in eine gepaarte Verbindung übergeht, so wird andererseits ein erheblicher Antheil ebenso wie Paraacettoluid zu Acetylamidobenzoesäure oxydirt. Wenn man die gesammelten alkoholischen Extracte der frisch abgedampften Harne mit verdünnter Schwefelsäure ansäuert und mehrmals mit Aether ausschüttelt, so scheiden sich beim Verdunsten des letzteren reichliche farblose Krystalle aus, die durch wiederholtes Umkrystallisiren aus heissem verdünnten Alkohol rein erhalten werden: Blendend weisse, sehr kurze Nadeln, welche bei 240° bis 241° schmelzen und beim weiteren Erhitzen unter theilweiser Zersetzung und Auftreten des Geruches nach Essigsäure sublimiren. Die Verbindung ist in Wasser, selbst in heissem, ausserordentlich schwer, in Alkohol leicht, in Aether ziemlich schwer löslich; die wässerige Lösung reagirt sauer. Mit Alkalien giebt sie leicht lösliche Salze.

Bei der Elementaranalyse der bei 110° getrockneten Substanz wurden folgende Zahlen erhalten:

1. 0,2258 gaben 0,4993 $CO_2$ und 0,1116 $H_2O$, entsprechend 60,3 % C und 5,4 % H.
2. 0,2310 gaben 15,7 cbcm. N bei 11,0° C. und 760 mm Hg, entsprechend 8,1 % N.

Acetylamidobenzoesäure $C_9H_9NO_3$

| | | verlangt: | gefunden: |
|---|---|---|---|
| C | = | 60,34 % | 60,3 %. |
| H | = | 5,03 % | 5,4 %. |
| N | = | 7,82 % | 8,1 %. |

Metaacetylamidobenzoesaures Silber $C_9H_8NO_3Ag$: aus der Lösung des Ammoniaksalzes durch Fällung mit $AgNO_3$ in farblosen, in Wasser ziemlich leicht löslichen Krystallwarzen erhalten:

0,1754 Substanz bei 105° getrocknet, gaben 0,0658 gr. Ag,
entsprechend: 37,51 % Ag,
verlangt: 37,76 %.

Metaacetylamidobenzoesaures Calcium $(C_9H_8NO_3)_2Ca + 3\ H_2O$, erhalten durch Zusatz von Kalkmilch zur heissen wässerigen Lösung der Säure, Entfernung

des Kalküberschusses durch $CO_2$ und starkes Eindampfen der filtrirten Lösung. Beim Erkalten der letzteren krystallisirte das Salz in Gruppen von farblosen Nadeln und dünnen Prismen, die in Wasser ziemlich leicht löslich waren:

1. 0,4300 lufttrockne Substanz verloren bei 110—120° getrocknet 0,0520 $H_2O$ = 12,09% $H_2O$.
2. 0,378 Substanz bei 120° getrocknet, gaben 0,1283 $CaSO_4$, entsprechend 9,98% Ca.

$(C_9H_8NO_3)_2Ca + 3\,H_2O$

| verlangt: | gefunden: |
|---|---|
| 12,0% $H_2O$ | 12,09% $H_2O$. |

$(C_9H_8NO_3)_2Ca$

| | verlangt: | gefunden: |
|---|---|---|
| Ca = | 10,1% | 9,98%. |

---

In einigen Punkten weicht die von uns aus dem Harn isolirte Säure von der Metaacetylamidobenzoesäure ab, welche zuerst von Foster[1]) im Jahre 1861 dargestellt und näher untersucht worden ist. Foster giebt an, dass sie bei 220—230° schmilzt und ein in kaltem Wasser sehr schwer lösliches Calciumsalz von der Formel $(C_9H_8NO_3)_2Ca + 3\,H_2O$ giebt, welches sich beim Erkalten der heissen Lösung in dünnen rhombischen Tafeln ausscheidet.

Wir fanden dagegen den Schmelzpunkt der anscheinend vollkommen reinen Verbindung bei 240—241°; derselbe änderte sich auch bei wiederholtem Umkrystallisiren aus 50% Alkohol nicht.

Ausserdem zeigte das von uns dargestellte Calciumsalz andere Eigenschaften wie die von Foster beschriebenen: Es krystallisirt nicht in rhombischen Tafeln, sondern in dünnen Prismen und Nadeln; es war nicht schwer löslich in Wasser, sondern leicht löslich. Den Krystallwassergehalt fanden wir dagegen ebenso wie Foster entsprechend 3 Molekülen $H_2O$.

Gegen den naheliegenden Einwand, dass wir vielleicht ein Gemenge der Meta- und Paraverbindung (welche letztere vielleicht von einer Verunreinigung des Metaacettoluid durch

---

1) Liebig u. Wöhler's Annal., Bd. 117.

Paraacettoluid herrühren könnte) unter Händen gehabt, sprach das völlig homogene Aussehen unserer Substanz und ihrer Salze. Um jedem Zweifel zu begegnen, verwandelten wir sie in die entsprechende Amidobenzoesäure, indem wir die Verbindung mit Salzsäure im zugeschmolzenen Rohr auf 130—140° erhitzten, das beim Erkalten krystallinisch ausgeschiedene salzsaure Salz abfiltrirten, in Wasser lösten und mit $NH_3$ und Essigsäure versetzten.

Die Amidobenzoesäure schied sich alsbald in sehr kleinen zu Warzen gruppirten, in Wasser schwer löslichen Nadeln aus, welche bei 172—173° schmolzen. Ihre Lösung besass einen deutlich süssen Geschmack. Diese Eigenschaften entsprechen vollkommen der Metaamidobenzoesäure, deren Schmelzpunkt zu 173—174° angegeben wird, während die Paraamidobenzoesäure bei 186—187° schmilzt und in sehr langen, spröden, in Wasser leicht löslichen Nadeln krystallisirt. Wir glauben deshalb, dass unsere Metaacetylamidobenzoesäure vollkommen rein war und die Angaben Foster's einer Correction bedürfen.

Quantitative Bestimmungen ergaben, dass bei Kaninchen ca. 50 % des verfütterten Metaacettoluids, bei Hunden dagegen nur ca. 20 % desselben als Metaacetylamidobenzoesäure ausgeschieden werden.

---

Aus vorstehenden Untersuchungen, die noch in mancher Beziehung lückenhaft sind und der Vervollständigung bedürfen, ergaben sich folgende Resultate:

1. Die Umwandlung des Acetanilids ist bei Herbivoren und Carnivoren verschieden:

a) bei Kaninchen wird es unter vollständiger Eliminirung der Acetylgruppe zu Paraamidophenol oxydirt;

b) bei Hunden dagegen geht nur ein kleiner Theil in Paraamidophenol über. Der Hauptsache nach geschieht die Umsetzung derart, dass unter gleichzeitiger Oxydation des Anilinrestes zu Orthoamidophenol, der Acetylgruppe zu COOH zunächst eine Verbindung entsteht von der Zusammensetzung

$C_6H_4{}^{(1)\,NH\,.\,COOH}_{(2)\,OH}$ (Oxyphenylcarbaminsäure), welche in freiem Zustande nicht beständig ist und durch Abspaltung von Wasser sofort sich in ihr Anhydrid, Orthoxycarbanil ($C_6H_4{}^{N}_{O} \gg C(OH)$) umwandelt. Das letztere lässt sich aus den mit Salzsäure erhitzten Harnextracten in grossen Mengen isoliren.

Die Stoffwechselproducte des Acetanilids werden bei Kaninchen sowohl als bei Hunden in gepaarten Verbindungen mit Schwefelsäure resp. Glycuronsäure ausgeschieden.

2. Die 3 isomeren Acetyltoluidine unterscheiden sich in Betreff ihres chemischen Verhaltens im Thierkörper wie folgt:

a) das Paraacettoluid wird, indem die Oxydation ausschliesslich an der $CH_3$-Gruppe stattfindet, vollständig in Paraacetylamidobenzoesäure $\left(C_6H_4{}^{NH\,.\,CH_3CO}_{COOH}\right)$ umgewandelt;

b) das Orthoacettoluid erfährt (bei Hunden) eine Umsetzung, welche der des Acetanilids vollkommen analog ist. Während die Methylgruppe intact bleibt, wird durch Eintritt von OH ein Phenol gebildet, welches mit dem Oxydationsrest der Acetylgruppe in Zusammenhang bleibt; es entsteht als Endproduct eine Verbindung von der Zusammensetzung: $C_6H_3{}^{CH_3}_{N}{}_{O} \gg C(OH)$ (Methyloxycarbanil s. Oxycarbamidokresol), welche als das Anhydrid einer Säure $C_6H_3{}^{CH_3}_{NH\,.\,COOH}{}_{OH}$ (Oxykresylcarbaminsäure) aufgefasst werden muss. Dieses Product findet sich im Harn in einer, die Polarisationsebene nach links drehenden gepaarten Verbindung;

c) das Metaacettoluid wird bei Hunden und Kaninchen einerseits zu Metaacetylamidobenzoesäure oxydirt, andererseits in nicht näher erforschte linksdrehende gepaarte Verbindungen verwandelt.

3. Von den 3 isomeren Acetyltoluidinen besitzt nur das Orthoacettoluid giftige Eigenschaften, während die Para- und, wie es scheint, auch die Metaverbindung völlig ungiftig sind.

4. Eine temperaturherabsetzende Wirkung kommt nur dem Metaacettoluid zu; die Para- und Orthoverbindung sind ohne bemerkenswerthen Einfluss auf die Körperwärme.

5. Ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der temperaturvermindernden Wirkung und der Art der chemischen Umsetzung im Organismus lässt sich nicht nachweisen; denn existirte ein solcher, so müsste das Orthoacettoluid, dessen chemisches Verhalten im Thierkörper dem des Antifebrins vollkommen analog ist, dem letzteren auch in Bezug auf den antipyretischen Esprit am nächsten stehen, was nicht der Fall ist.

## Ueber das Vorkommen des Fluors in Organismen.

Von

G. Tammann.

(Der Redaction zugegangen am 26. Februar 1888.)

Um das Fluor in einem Organ nachzuweisen, äschert man gewöhnlich dieses ein, übergiesst die Asche mit Schwefelsäure und lässt die sich entwickelnden Gase auf eine mit Wachs überzogene, gravirte Glasplatte wirken. Nach Nicklés[1]) verwendet man an Stelle der Glasplatte mit Vortheil eine solche von Bergkrystall. Dieses Verfahren kann nur bei der Abwesenheit von Kieselsäure eindeutige Resultate ergeben. Bei Anwesenheit von Kieselsäure beweist ein negativer Befund durchaus nicht die Abwesenheit des Fluors.

Bequemer in der Ausführung und eindeutige Resultate ergebend erscheint folgendes Verfahren. Man bringt die zu untersuchende Substanz innig mit Quarzpulver gemengt in einen Ballon mit dreifach durchbohrtem Stopfen, fügt mittelst eines Scheidetrichters Schwefelsäure in den Ballon und erhitzt diesen. Ein Strom trockner Luft führt das etwa gebildete Fluorsilicium durch eine enge Röhre in ein Gefäss mit Wasser. Dicht über dem benetzten Theile der Röhre wird das Fluorsilicium durch den Wasserdampf zersetzt, und die gebildete Kieselsäure schlägt sich an der Röhrenwand nieder. Die Gegenwart von 0,0001 gr. Fluor genügt, um den Kieselsäurering deutlich sichtbar zu machen.

Die Anwendbarkeit des folgenden Verfahrens zur quantitativen Bestimmung des Fluors beweisen die früher[2]) mit-

---

[1]) Nicklés, Compt. rend., T. XLIV, p. 679. 1857.

[2]) Tammann, Anal. Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 328. 1885.

getheilten Beleganalysen. Unter den beschriebenen Umständen bildet sich bei der Reaction von Fluorsilicium auf Wasser Kieselflusssäure und Siliciumoxyfluorhydrin. Um letzteres in Lösung zu bringen, spült man die Vorlage mit Kalilauge aus und dampft die alles Fluor enthaltende Lösung zur Trockne. Alsdann nimmt man den Rückstand mit Salzsäure auf, fällt das gebildete Kieselfluorkalium mit Alkohol, filtrirt, wäscht den Niederschlag und titrirt das Kieselfluorkalium mit Kalilauge.

Bekanntlich entweicht das Fluor beim Einäschern der organischen Stoffe. Auch bei einem Zusatz der 60fachen Menge von kohlensaurem Natron ist ein Verlust von 10% der vorhandenen Fluormenge zu erwarten. Man hat demnach die folgenden Angaben als Minimalquantitäten zu betrachten.

Es ist bekannt, dass das Fluor ein nie fehlender, wesentlicher Bestandtheil der Knochen ist. Das verbreitete Vorkommen des Fluors in Ackerböden und Quellen macht das ganz allgemeine Auftreten desselben in den Organen wahrscheinlich. In der That haben die Untersuchungen von Nicklés[1]) die allgemeine Verbreitung des Fluors in den Organen erwiesen. Aber zur Lösung der Frage, ob dem Fluor in anderen Organen als den Knochen nicht auch eine wichtige physiologische Bedeutung zukommt, liegen meines Wissens nur zwei Beobachtungen vor. Die Prüfung des menschlichen Gehirns ergab Horsford[2]) eine wägbare Quantität Fluor, und Salm-Horstmar[3]) konnte ohne Fluordünger Erbsen- und Gerstenpflanzen nicht zur vollen Entwicklung bringen.

Vor mehreren Jahren habe ich einige Organe auf Fluor geprüft und theile im Folgenden meine Resultate mit.

Die Untersuchung des Hühnereis ergiebt eine ungleichmässige Vertheilung des Fluors im Ei. Die Eischale enthält nur eine sehr geringe Spur Fluor, der Gehalt des Eiweiss ist

---

1) Nicklés, Compt. rend., T. XLIII, p 885. 1856.
2) Horsford, Liebig's Ann., Bd. 149, S. 202. 1869.
3) Salm-Horstmar, Pogg. Ann., Bd. 114, S. 510. 1861.

schon ein wenig grösser, und am fluorreichsten ist der phosphorreiche Dotter. Wie in den Apatiten das Fluor als Begleiter der Phosphorsäure gefunden wird, so enthalten die an Phosphorverbindungen reichen Organe wägbare Mengen von Fluor. Die Anhäufung des Fluors in phosphorreichen Organen scheint mir darauf hinzuweisen, dass auch dem Fluor eine wichtige physiologische Rolle in den Organismen zukommt.

Anknüpfend an die Beobachtung von Salm-Horstmar, dass Erbsen, die auf fluorfreiem Boden wachsen, sich nicht vollständig entwickeln, habe ich einige Culturversuche mit Erbsen und Gerste ausgeführt. In einer Nährstofflösung wurden zwei Monate lang Erbsen- und Gerstenkeimlinge gezogen. Die winterliche Witterung verhinderte die freudige Entwicklung der am Südfenster wachsenden Pflanzen in dem Maasse, dass nach zwei Monaten die Länge der wenig verästelten Erbsenpflanzen nur 30 cm., die Länge der mit 7—9 gut entwickelten Blättern versehenen Gerstenpflanzen nur 40 cm. betrug. Brachte man diese Pflanzen in eine Nährlösung[1]), die im Liter ausser den vorschriftsmässigen Salzen noch 0,1 gr. Fluorkalium enthielt, so gingen sowohl die Gersten- als auch die Erbsenpflanzen schnell zu Grunde. Nach 12 Stunden waren die Pflanzen vollkommen verwelkt und schon theilweise vertrocknet. Ebenso schnell welkten die Pflanzen in einer Nährlösung, zu der man 0,425 gr. Kieselfluorkalium pro Liter gefügt hatte. Einen Tag lang hielten sich die Pflanzen in einer im Liter 0,008 gr. Kieselfluorkalium enthaltenden Nährlösung, am zweiten Tage welkten die Pflanzen auch in dieser Lösung und gingen trotz mehrfacher Rettungsversuche regelmässig zu Grunde.

## Eidotter.

10 gr., 30 gr. und 40 gr. frischer Eischalen ergaben nach schwachem Glühen bei der beschriebenen Prüfung auf Fluor einen an der Röhrenwand nur als Hauch bemerkbaren Kieselsäurering.

---

[1]) Nobbe, Schröder und Erdmann, Lösung I. Landwirthsch. Versuchsst., Bd. XIII, S. 331. 1871.

114 gr. frisches Eiweiss wurden mit 3 gr. Soda eingeäschert. Bei der Prüfung der Asche erschien ein deutlich sichtbarer Kieselsäurering, doch ergab eine Bestimmung des zersetzten Fluorsiliciums kein Resultat.

102 gr. frischer Eidotter von 6 Hühnereiern, mit 8 gr. Soda eingeäschert, ergab 0,0023 gr. Kieselfluorkalium, entsprechend 0,0012 gr. Fluor. 84 gr. frischer Eidotter von 5 Eiern, mit 8 gr. Soda eingeäschert, ergab 0,0019 gr. Kieselfluorkalium, entsprechend 0,0009 gr. Fluor.

Sind im Knochen nach Zaleski[1]) 0,23 % Fluor, und sind im ausgebrüteten Küchel nach Voit 0,0347 gr. Kalk, so wären, wenn aller Kalk in den Knochen des Küchels enthalten ist, zum Aufbau der Knochen nur 0,08 mgr. Fluor nöthig. Gefunden wurde im Ei ungefähr die doppelte Menge, 0,2 mgr. Fluor.

Ferner wurde das frische Gehirn (189 gr.) eines 30 Tage alten Kalbes mit 10 gr. Soda eingeäschert. Die Analyse ergab 0,0027 gr. Kieselfluorkalium, entsprechend 0,0014 gr. Fluor.

Auch in der Milch und im Blut einer Kuh fand sich das Fluor in wägbaren Mengen.

1 Liter Kuhmilch, mit 5 gr. Soda eingeäschert, ergab einmal 0,0008 gr. Kieselfluorkalium, entsprechend 0,0004 gr. Fluor, das andere Mal 0,0006 gr. Kieselfluorkalium, entsprechend 0,0003 gr. Fluor.

Schliesslich konnte in 300 cbcm. Kuhblut, eingeäschert mit 3 gr. Soda, deutlich die Anwesenheit von Fluor nachgewiesen werden.

Sowohl die Salze der Fluorwasserstoffsäure, als auch die der Kieselfluorwasserstoffsäure wirken giftig auf die Pflanzen.

In den Ackerböden ist das Fluor wohl in den häufig vorkommenden Apatitnadeln enthalten, und da die Wurzeln der Pflanze ein saures Secret absondern, so muss in der Nähe der Wurzeln eine Apatitlösung mit der immer im Ueberschuss vorhandenen Kieselsäure kieselfluorwasserstoffsaure Salze bilden. Die zu den Culturversuchen benutzte verdünnte Lösung

---

1) Zaleski, Med.-chem. Untersuchungen von Hoppe-Seyler, I, S. 19.

von Kieselfluorkalium ist gewiss sehr viel concentrirter als die in der Natur der Pflanze gebotene Lösung. Auch die Culturversuche sprechen dafür, dass sich das Fluor, wenn auch ausserordentlich verbreitet, doch immer in sehr geringen Mengen in den Culturböden findet.

Zum Schluss seien mir einige Bemerkungen über die Bildung des fluorreichsten Organes, der Knochensubstanz, gestattet. Bekanntlich enthält auch der gut gereinigte Knochen neben organischen Stoffen eine Verbindung von fünf Salzen: phosphorsauren Kalk, kohlensauren Kalk, Fluorcalcium, Chlorcalcium und schwefelsauren Kalk. Eine Verbindung dieser fünf Salze lässt sich künstlich darstellen. Saurer phosphorsaurer Kalk und kohlensaurer Kalk bilden bei 150° eine undeutlich krystallisirende Verbindung, die die Eigenschaften des Staffelits zeigt. Die Verbindung löst sich nicht in Essigsäure, wohl aber in Salzsäure unter Kohlensänreentwicklung. Behandelt man bei 100° den natürlich vorkommenden oder den künstlichen Staffelit mit Lösungen von Chlornatrium, Natriumsulfat oder Fluornatrium, so kann man nach Verlauf von 12 Stunden deutliche Mengen von Chlor, Fluor oder Schwefelsäure in dem Staffelit nachweisen. Ebenso setzt sich Fluorapatit mit Lösungen von Chlornatrium und Natriumsulfat um.

Da im Blute die genannten Salze vorkommen, so wäre, wenn auch der jugendliche Knochen nur aus organischen Stoffen, phosphorsaurem Kalk und kohlensaurem Kalk bestände, doch eine allmähliche Anreicherung derselben an Calciumsulfat, Chlorcalcium und Fluorcalcium zu erwarten.

Dorpat, im Mai 1883.

# Ueber den Futtersaft der Bienen.

Von

**Dr. Adolf von Planta.**

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 1. März 1888.)

Als Futtersaft oder Futterbrei bezeichnet man bekanntlich jene breiartige, weissliche Substanz, welche die fütternden Arbeitsbienen in die Zellen der Larven von Königinnen, Drohnen und Arbeiterinnen einlegen. Ueber die Natur und Herkunft desselben ist ein lebhafter Streit geführt worden, an welchem sich ausser den Bienenzüchtern auch bedeutende Zoologen betheiligt haben[1]). Während z. B. Leuckart (Deutsche Bienenzeitung 1854 u. 55) anfänglich der Ansicht huldigte, der Futtersaft sei ein Product des Chylusmagens und werde von diesem aus in die Zellen erbrochen, ganz so wie der Honig aus dem Honigmagen, se verliess er diese Ansicht, nachdem Fischer die einzige Quelle des Futtersaftes in den Speicheldrüsen des Kopfes und Thorax gefunden zu haben

[1]) Die diesbezügliche Literatur ist eine sehr reiche. M. vergl. z. B. folgende Abhandlungen:

Eichstädter Bienenzeitung, Jahrgang 1854, S. 260,
» » » 1855, S. 199 u. 215.
» » » 1855, S. 244.
» » » 1856, S. 28.
» » » 1856, S. 232.
» » » 1871, S. 230.
» » » 1880, S. 87.
» » » 1883, S. 3 etc. etc.

Schiemenz, Abhandlung über Futtersaft und Speicheldrüsen; bei Engelmann, Leipzig.

glaubte, und stimmte Letzterem zu. Den gleichen Standpunkt vertraten auch Vogel, Dzierzon und Hilbert.

Dieser Ansicht entgegen, also für die Herkunft des Futtersaftes aus dem Chylusmagen, trat nun in durchschlagender, anatomisch wie physiologisch durchaus überzeugender Weise Schönfeld in die Schranken. (Siehe Deutsche Bienenzeitung, 1880, S. 87, 97, 109, 121, 135, 145 u. 1883.) Eine Stütze für die Ansicht Schönfeld's lieferten die Resultate einer Untersuchung des Futtersaftes, welche ich vom rein chemischen Standpunkte aus unternommen und unter gefälliger Beihülfe von Prof. E. Schulze ausgeführt habe. Ehe ich dieselben mittheile, sollen die Ergebnisse der Forschungen Schönfeld's in gedrängter Kürze resumirt werden[1]).

Erstens weist Schönfeld in überzeugender Weise nach, dass der Futtersaft nicht das Secret einer Ernährungsdrüse sein kann, weil die als solche in Anspruch genommenen Drüsen lediglich Speichel absondern; weil ferner der Futtersaft in die Zelle erbrochen werden muss, was mit einem Drüsensecret ein Ding der Unmöglickeit wäre, und weil endlich die Resultate seiner Fütterungsversuche unzweifelhaft auf den Chylusmagen der Biene, als die Stätte seiner Bildung, hinweisen. Da von Leuckart und seiner Schule nirgendwo gesagt ist, ob die in Betracht kommenden Drüsen alle zusammen den Futtersaft liefern, oder welche einzelne Drüse unter ihnen der Lieferant sei, so zeigt Schönfeld sehr genau unter voller Berücksichtigung der anatomischen und physiologischen Verhältnisse der Drüsen, dass weder die untere Kopfspeicheldrüse Futtersaft liefern könne, weil sie den Speichel zu liefern habe zum Pollenkauen, zur Wachsverarbeitung, zur Verdünnung, grössern Assimilationsfähigkeit und Ansäuerung des Futterbreies, der durch die Mundöffnung abgegeben werden müsse, wohin nur diese Drüse sich ergiesse und dann ergiessen müsse, wenn die Biene kaut, weil der weiche Ausführungsgang zwischen den beiden Kinnbackenmuskeln liege, noch dass die

---

1) Unter Benutzung von brieflichen Mittheilungen, welche Herr Schönfeld mir zu machen die Güte hatte.

obere Kopfspeicheldrüse und die Brustspeicheldrüse als Bildungsstätte des Futtersaftes angesehen werden können. Der diesen beiden Drüsensystemen gemeinschaftliche Ausführungsgang mündet gar nicht in die Mundhöhle, sondern auf die vordere Hälfte der Zungenwurzel, die dem Saugapparat angehört, welcher mit der Abgabe von Futtersaft nichts zu thun haben kann. Schönfeld zeigt vielmehr ganz überzeugend, dass die obere Kopfspeicheldrüse, deren Secret ölartig ist, die für den complicirten, chitinösen Saugapparat ganz unerlässliche äusserliche Schmierzufuhr zu liefern hat, während das wässerige Secret der Brustspeicheldrüse das Zungenfutteral im Innern anfeuchtet, um den dichten, dasselbe auskleidenden Haarwald behufs Aufnahme des Nektars anzufeuchten und den im Nektar sich befindlichen Rohrzucker in Frucht- und Traubenzucker zu invertiren, sowie auch endlich, um das Geschmacksorgan der Biene mit seinen 25 Geschmacksbechern, auf die es sich unmittelbar ergiesst, mit dem erforderlichen Speichel zu versorgen.

Wenn Schönfeld ferner nachweist, dass die Biene nicht im Stande ist, das Secret einer Drüse aus der Mundhöhle oder dem Zungenfutteral in die Zelle zu ergiessen, weil sie nicht die Fähigkeit besitzt zu spucken, diejenige Flüssigkeit vielmehr, welche als Futtersaft auf den Boden der Zellen, besonders in die senkrechten Zellen der Königinnen-Larven ergossen wird, dorthin nur durch einen Brechakt der Biene gelangen kann; wenn er weiter beweist, dass Milch- und Ernährungsdrüsen, wenn sie aus irgend einem Grunde keine Abnahme ihres Secrets mehr finden, einen Involutions- und Rückbildungs-Process, bei dem die acini eintrocknen, eingehen, ein solcher Process aber niemals, auch bei solchen Bienen nicht, die 5—6 Monate keine Brut zu ernähren haben, eintritt, und wenn er endlich noch durch viele Fütterungsversuche zeigt, dass sich kleine Körperchen, welche dem Futterhonig beigemischt wurden, nach mehreren Stunden schon im Futter nachweisen liessen, so hat er so viele Beweise gebracht, dass die Drüsen unmöglich als die Lieferanten des Futtersaftes angesehen werden können.

Darum sieht Schönfeld den Chylusmagen als das Organ an, welches den Futtersaft liefert. Er gibt dafür physiologisch unanfechtbare Beweise. Futtersaft ist reiner Chylus, welcher bei der Biene, der bekanntlich Leber, Bauchspeicheldrüse, Blut- und Chylusgefässe gänzlich fehlen, schon innerhalb ihres Chylusmagens erzeugt wird, und zwar durch denselben Process, wie er nach den neuesten Forschungen von Ernst Brücke, Vorlesungen über Physiologie, S. 198, Vierordt, Physiologie, S. 151, beim Menschen und höhern Thieren in den Milchgefässen stattfindet. Denn die morphologischen Elemente, das, was die Chylusflüssigkeit zum Chylus macht, die eigenthümlichen Chyluskörperchen, weist Schönfeld schon innerhalb des Chylusmagens nach, wo sie sich durch Theilung des Kernkörperchens ihrer im Chylusmagen liegenden, gestielten und bewimperten Mutterzellen bilden. Tritt dieser Chylus — so lehrt Schönfeld — durch Ausschwitzung der Magenwände in den Hinterleib der Biene, so bildet er das Blut derselben; contrahiren dagegen die Bienen den Magen vermittelst ihrer quergestreiften Muskeln, so ergiesst sich der Chylus in den Honigmagen und von hier durch erneuerte Contractionen des Honigmagens als Futtersaft in die Zelle. Derselbe Stoff, der die Biene ernährt, baut also auch den Leib der Larve auf.

Da nun aber Leuckart und seine Schüler (Schiemenz) nur deshalb den Futtersaft als das Secret einer Drüse ansehen, weil sie es für unmöglich erklären, dass der Chylus in Folge einer Klappenvorrichtung an der Cardia des Chylusmagens durch einen Brechakt nach oben entleert werden könne, so hat Schönfeld diese sogenannte Klappenvorrichtung einer besonderen, höchst interessanten Untersuchung unterworfen. (Bienenzeitung, 1883, S. 105 ff., und in Du Bois-Reymond's Archiv für Anatomie u. Physiologie, Physiologische Abtheilung, 1886, S. 451 u. ff.) Er fand dabei, dass an der Cardia eine vermuthete Klappenvorrichtung überhaupt nicht vorhanden sei, weil durchaus entbehrlich und überflüssig, sondern ein Organ liege — dessen vortreffliche anatomische Beschreibung von Léon Dufour (mémoires présentés par divers savants à l'Académie des sciences de l'Institut de France.

Sciences mathém. et physiques, t. VII, Tab. V, Fig. 48) und Schiemenz (a. a. O.) ihm erst nach dem Erscheinen seiner Abhandlung zu Gesicht kam — und das von der grössten physiologischen Bedeutung ist. Es befähigt die Biene als ein innerer, wirklicher Magenmund, von ihren Vorräthen im Honigmagen zu essen und zu trinken, wann und so viel sie will, was Schönfeld als nicht zu bezweifelnde Thatsache damit beweist, dass er die willkürliche Disposition der Biene über dieses Organ klar legt. Was uns hier jedoch nur interessiren kann, ist der Nachweis Schönfeld's, dass die eigenthümliche Verlängerung des Magenmundes in den Chylusmagen hinein, die eine Einstülpung bildet, nicht als Klappe fungirt, sondern geschaffen ist, um erforderlichen Falls ausgestülpt zu werden, um den aus sehr zarten Häuten bestehenden Hals des Magenmundes, d. i. das Verbindungsstück zwischen Honig- und Chylusmagen, vor dem Zerreissen zu bewahren, so oft sich der Honigmagen beim Erbrechen des Honigs contrahirt und von hinten nach vorn blitzartig gezogen wird. Indem sich hiebei die Einstülpung ausstülpt, ist jeder Gefahr begegnet. So erfolgt auch, wie Schönfeld durch vielfache Versuche nachgewiesen hat, indem er durch leisen Druck mit dem Deckgläschen den Inhalt des Chylusmagens nach vorn drängte, eine Ausstülpung des Halses, wenn die Biene ihren Chylusmagen contrahirt, um den Inhalt erbrechen zu wollen. Ein Hinderniss für den Brechakt liegt also nicht vor.

Soviel über die Resultate der interessanten Forschungen Schönfeld's.

Ueber die Zusammensetzung des Futterbreies liegen nur sehr unvollständige Angaben vor. Schlossberger (Eichstädter Bienenzeitung, 1871, S. 230) sagt: Der Futtersaft zeigt:

Qualitativ: Viel in Aether löslichen Stoff, mit verdünntem Kali nicht verseifbar: Wachs, Spuren glycerinhaltigen Fettes, Zucker wenig. In Kali lösliche Substanz, aber keine bedeutende Menge von Proteinstoff. Dagegen eine mit brauner Farbe in Kali lösliche Materie, welche durch Säuern daraus nicht abgeschieden wurde.

Die quantitative Zusammensetzung ist folgende:

| | |
|---|---|
| Wasser bei 120° flüchtig | 19,17 |
| In Aether lösliche Stoffe (Wachs und wenig Fett) | 21,78 |
| In 82 % Alcohol lösliche Stoffe (Zucker und Extractivstoff) | 2,60 |
| In verdünntem Kali lösliche Materien (wenig Protein, bräunlicher Farbstoff etc.) | 16,29 |
| Unlöslicher Rückstand (Haare, Pollen, Pflanzentheile etc.) | 40,16 |
| | 100,00 |

Ein Vergleich dieser Angaben mit den Resultaten meiner w. u. mitgetheilten Futterbreianalysen muss starke Zweifel daran erwecken, dass erstere sich auf reinen Futterbrei beziehen.

Leuckart beschreibt den mikroskopischen Befund des Futterbreies (welches?) folgendermassen: Man findet Bruchstücke von Pflanzentheilen, Blüthenstaub, Bienenhaare, Stärkmehlkügelchen und Oelkugeln.

Der Werth dieser Angaben ist schon deshalb ein geringer, weil von den Autoren nicht mitgetheilt wird, was für Futterbrei sie untersucht haben. Die Zusammensetzung des letzteren ist aber nicht immer die gleiche. Wie später näher gezeigt werden wird, enthält der Futterbrei der über 4 Tage alten Drohnenlarven Pollenkörner in reichlicher Menge, während solche im Futterbrei der jüngern Drohnenlarven und der Königinnenlarven fehlen.

Ich stellte mir die Aufgabe, die Futterbreie, welche diese drei Larven-Gattungen, Königinnen, Drohnen und Arbeiterinnen, erhalten, gesondert zu untersuchen. Die Beschaffung des erforderlichen Materials war aber mit grossen Schwierigkeiten verknüpft. Von dem Futterbrei einer Arbeiterzelle bleibt nach Entfernung der Larve nur etwa ein Quantum vom Volumen eines Stecknadelknopfes übrig und diese übrigbleibende Substanz enthält etwa 70 % Wasser. Bei den Drohnen-Zellen stellt sich die Sache freilich etwas günstiger, mehr noch bei den Königinnen-Zellen; immerhin müssen auch hier sehr viele Zellen ihres Inhalts beraubt werden, um nur das Material zur Ausführung einer analytischen Bestimmung zu gewinnen. Um die Quantität Futterbrei zu erhalten, welche für die von mir ausgeführten Untersuchungen erforderlich war, mussten

200 Königinnenzellen und mehrere Tausend Drohnen- und Arbeiterinnen-Zellen verwendet werden. Nach diesen Zahlen kann man ermessen, wie viel Arbeit mit dem Sammeln des für meine Untersuchungen verwendeten Materials verbunden war. Dass ich dieses Material erhielt, verdanke ich der aufopfernden Gefälligkeit und dem lebendigen Interesse von zwei zu den ersten Bienenzüchtern der Schweiz gehörenden Männern, den Herren Theiler in Zug und Wyndlin in Kerns (Obwalden). Ich spreche denselben für ihre Bemühungen hier öffentlich meinen Dank aus.

Bei Einsammlung des Futterbreies wurden die Larven sorgfältig (mit der Pincette) entfernt.

Die nähere microscopische Untersuchung des Futterbreies sowohl der Königin-, als auch der Drohnenlarven verschiedenen Alters hatte Herr Prof. C. Cramer die Güte zu besorgen. Königinfutterbrei jeder Altersstufe (bis zum Verpuppen der Larven) zeigt unter dem Microscope nur so vereinzelte Pollenkörner, dass letztere als rein zufällige Bestandtheile angesehen werden müssen; die Annahme, dass dieser Futterbrei vollkommen frei von absichtlich zugesetztem Pollen sei, ist daher als eine berechtigte zu betrachten. Ebenso verhält es sich mit dem Futterbrei der jüngsten Drohnenlarven bis zu 4 Tagen; er ist genau so wie der Königinfutterbrei, vollkommen vorverdaut und bildet eine homogene — freilich weniger dichte Masse als jener — und hat keinen Pollenzusatz erhalten. Ganz anders derjenige von über 4 Tage alten Drohnenlarven. Derselbe ist klebriger, gelber und zeigt unter dem Microscope eine reiche Fülle von Pollenkörnern. Dieselben erscheinen stark verändert, die meisten sind leer — unverändert sind wenige. Man erkennt bei ihnen Repräsentanten von wenigstens 12 Pflanzenfamilien, darunter Malven, Löwenzahn und Monocotyledonen. Herr Prof. Cramer hat als Mittel von 40 Zählungen mittelst eines Ocularquadratennetzes, dessen Werth 1,4730 mm$^2$. betrug, auf einer Oberfläche von 1440 mm$^2$. für nur 1 Milligramm desjenigen Theiles Drohnenfutterbrei über 4 Tage alt — der in Weingeist nicht lösbar war, die überraschende Zahl von 15,000 Stück Pollenkörnern gefunden.

Es sei hier erwähnt, dass auch das Bienenbrod, gleich dem Futterbrei der über 4 Tage alten Drohnenlarven, unter dem Microscope ein buntes Gemisch von Pollenkörnern zeigt.

Was endlich den Arbeiterinnenfutterbrei betrifft, so erwies sich derselbe gleichfalls als pollenfrei, obgleich der Einsender (Herr Theiler in Zug) es als möglich hinstellte, dass derselbe nicht ausschliesslich aus den Zellen von weniger als 4 Tage alten Arbeiterinnenlarven stamme. Ob daraus zu schliessen ist, dass der den Arbeiterinnenlarven der höheren Altersstufe gereichte Futterbrei im Gegensatz zum Drohnenfutterbrei keinen Zusatz von Pollen erhält, wage ich jetzt noch nicht zu entscheiden; es scheint mir nöthig, zu diesem Behufe noch weiteres Material zu untersuchen. Jedenfalls aber hatte der von mir analysirte Arbeiterinnenfutterbrei keinen Zusatz von Pollen erhalten.

Eine microscpische Untersuchung des Futterbreies von Drohnenlarven verschiedenen Alters verdanke ich ferner der Güte des Herrn Dr. Dufour (damals Assistent am botanischen Institut des eidg. Polytechnikums, jetzt Director der önologischen Versuchsstation in Lausanne). Im Futterbrei aus den Zellen von Drohnenlarven, welche nur 1 Tag alt waren, fand der Genannte keine Pollenkörner[1]). Ebenso war es beim Futterbrei der 2—3 Tage alten Larven. Ein anderes Resultat dagegen wurde erhalten, als der Futterbrei bei Larven der letzten Altersstufe (6—7 Tage alt, also am Schlusse des Larvenzustandes der Drohnen) untersucht wurde; es fanden sich darin viele Pollenkörner vor. Dass die Beimengung des Pollens nicht etwa eine zufällige ist, geht daraus hervor, dass vom 4. Tage an die Menge des im Futterbrei sich vorfindenden Pollens allmälig wächst[2]).

---

[1]) Vgl. auch Schönfeld, Deutsche Bienenzeitung, 1880, S. 110.

[2]) Untersucht man anderseits die Thiere (Drohnenlarven) selbst, so findet man im Magen derselben während der drei ersten Altersstufen keine Pollenkörner, während der letzten Altersstufe viel Pollenkörner, welche theils ihres Inhaltes entledigt, theils noch voll sind. Die eingepuppten Larven (Nymphen) enthielten nach einer microscopischen Untersuchung, welche der jetzt verstorbene Herr Holz in München ausführte, im Magen keinen Pollen; Hüllen von Pollenkörnern finden sich im Mastdarm, gemengt mit unverdauten Körnern.

Dieser Befund stimmt also mit den Ergebnissen der von Herrn Prof. Cramer ausgeführten microscopischen Untersuchung vollkommen überein.

Durch die im Vorigen mitgetheilten Untersuchungen, deren Resultate übrigens mit den Ergebnissen der w. u. aufgeführten chemischen Analysen in gutem Einklang stehen, hat sich also gezeigt:

1. Dass der Königinfutterbrei durch die ganze Larvenperiode sich gleich bleibt.

2. Dass der Drohnenfutterbrei in den ersten 4 Tagen pollenfrei und vollständig vorverdaut erscheint.

3. Dass der Futterbrei der über 4 Tage alten Drohnenlarven reich an Pollen ist, der im Magen der verdauenden Arbeiterinnen schon wesentliche Veränderungen erfahren hat — also jedenfalls aus demselben stammt (Schönfeld's Ansicht).

4. Dass die fütternden Bienen den zur Nahrung der Larven bestimmten Pollen sehr wahrscheinlich aus nächster Nähe den Bienenbrodzellen entnehmen und nicht den Pollen der Höschen benutzen, da die letztern für jede Heimkehr nur aus einer Pollenart bestehen, wie meine diesbezüglichen Untersuchungen (Schweizerische Bienenzeitung, No. 9, 1884) dargethan haben.

Die chemische Untersuchung des Futterbreies wurde nach folgenden Methoden ausgeführt:

Proben eines jeden Futterbreies wurden zwischen gewogene, auf einander geschliffene Uhrschalen gebracht; in diesen Uhrschalen, welche durch Klammern zusammengeschlossen werden konnten, wurden sie nach Zürich transportirt.

Von diesen Proben dienten einige zur Wasser- und zur Stickstoffbestimmung, andere zur qualitativen Untersuchung. Bei Ausführung der Wasserbestimmungen liess ich die zuvor gewogenen Proben über concentrirter Schwefelsäure langsam eintrocknen; nachdem der dabei eingetretene Gewichtsverlust bestimmt worden war, brachte ich die Proben in einen Wasserbad-Trockenschrank und liess sie darin, bis annähernde Constanz des Gewichts eingetreten war. Die so im Ganzen

erhaltene Gewichtsabnahme wurde als Wasser in Rechnung gestellt (wahrscheinlich waren aber neben Wasser auch geringe Mengen flüchtiger organischer Verbindungen fortgegangen).

Die Stickstoffbestimmungen wurden nach der Methode von Kjeldahl ausgeführt. Für dieselben wurden entweder die bei der Ausführung der Wasserbestimmungen erhaltenen Trockensubstanzen oder abgewogenen Quantitäten der frischen Futterbreie verwendet.

Für die Bestimmung von Zucker, Fett und anderen organischen Bestandtheilen lässt sich der in der beschriebenen Weise eingetrocknete Futterbrei nicht gut benutzen, da er eine harte, von der Glasunterlage schwer abzulösende und schwer zu zerkleinernde Masse bildet; zudem bräunt er sich stark, wenn das Trocknen in der Wärme geschieht. Für jene Bestimmungen verwendete ich daher Futterbrei, welcher unmittelbar nach seiner Gewinnung in ein Gemisch von gleichen Theilen Alcohol und Aether (bei den Bestimmungen des Königinnen- und Drohnenfutterbreies von 1887 nur in Alcohol) gebracht worden war. Dieses Gemisch nimmt einige der Bestandtheile des Futterbreies auf; der Rest verwandelt sich nach und nach in eine harte, leicht pulverisirbare Masse. Um den Fett- und Zuckergehalt einer so behandelten Futterbreiprobe zu erfahren, musste natürlich sowohl die Quantität des Rückstandes, als auch die Quantität der in die ätherisch-alcoholische Lösung eingegangenen Substanz ermittelt und in beiden Zucker und Fett bestimmt werden. Ich verfuhr dabei in folgender Weise: Die ätherisch-alcoholische Lösung wurde in einen graduirten Cylinder filtrirt, der Rückstand zweimal mit Aether-Alcohol nachgewaschen. Vom gut gemischten und gemessenen Filtrat liess ich einen aliquoten Theil zur Trockengehaltsbestimmung über Schwefelsäure bis zur Constanz des Gewichts eintrocknen und trocknete den Rückstand sodann, ebenfalls bis zur Constanz des Gewichts, bei 100°. Den Rest der Lösung liess ich ebenfalls über Schwefelsäure eintrocknen: in dem dabei erhaltenen Rückstand bestimmte ich Fett und Zucker. Ich behandelte diesen Rückstand abwechselnd mit Aether und mit Wasser (auf dem Wasserbade), bis alles in

Lösung gegangen war; die dabei erhaltenen Flüssigkeiten goss ich in einen Cylinder. Nach genügender Klärung wurde die ätherische Lösung von der wässerigen getrennt. In letzterer bestimmte ich den Zucker mittelst Fehling'scher Lösung, oder gewichtsanalytisch; in ersterer das Fett (dasselbe wurde bei 100° in einem Luftstrom getrocknet, dann gewogen). Der feste Rückstand des Futterbreies, von weissgelblicher Farbe, wurde nach dem Abgiessen der ätherisch-alcoholischen Lösung ebenfalls über Schwefelsäure getrocknet, dann zerrieben. Eine Probe diente zur Trockenbestimmung (bei 100°). Eine andere Probe wurde abwechselnd mit Aether und mit Wasser extrahirt; die Extracte wurden ebenso behandelt, wie oben angegeben ist, und zur Fett- und Zuckerbestimmung verwendet. In gleicher Weise führte ich auch Stickstoffbestimmungen aus.

In zwei Fällen, nämlich beim Drohnenfutterbrei e und k (vgl. S. 342), versuchte ich die bei der Wasserbestimmung zurückgebliebene Trockensubstanz des Futterbreies zur Fettbestimmung zu verwenden. Diese Trockensubstanz wurde so behandelt, wie es im Vorigen für den «festen Rückstand» angegeben ist.

Nachdem ich im Vorigen den Gang der Untersuchung dargelegt habe, sollen im Folgenden zunächst die Ergebnisse der qualitativen Untersuchung des Futterbreies mitgetheilt werden.

Alle drei Futterbreisorten zeigten eine grauweisse Farbe, derjenige der Königin erschien dickflüssiger als der Drohnen- und Arbeiterinnenfutterbrei; der letztere schien der flüssigste zu sein.

Die Futterbreie gaben starke Eiweissreactionen; Peptone dagegen liessen sich wider Erwarten in den wässerigen Extracten, welche durch Versetzen mit einem Gemisch von Eisessig und Kochsalzlösung von Eiweissstoffen befreit worden waren, nur in Spuren nachweisen.

Beim Kochen mit 1 % Kalilauge lösen sich die pollenfreien Futterbreie der Königin und jüngerer Larven vollkommen.

Besondere Aufmerksamkeit richtete ich beim Futterbrei auf die An- oder Abwesenheit von Ameisensäure, welche

als Antisepticum im Bienenhaushalt eine Rolle spielt (jeder Honig enthält dieselbe). Zur Prüfung darauf wurde frischer Futterbrei in einem Wasserdampfstrom der Destillation unterworfen. Im Destillat liess sich in keinem Falle Ameisensäure nachweisen.

Es sei noch angeführt, dass Herr Dr. Dufour bei einer microscopischen und microchemischen Untersuchung des Futterbreies Eiweissstoffe in bedeutender Menge, Glyceride und Zucker nachzuweisen vermochte.

Der ätherische Extract des Futterbreies reagirte stark sauer. Da Ameisensäure nicht vorhanden ist, so muss die saure Reaction wohl von anderen freien Fettsäuren herrühren.

Die Resultate der quantitativen Bestimmungen sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt. Ich schicke derselben die Bemerkung voraus, dass ich den Gesammtstickstoff durch Multiplication mit 6,25 auf Proteinstoffe berechnet habe. Allerdings ist der Stickstoff im Futterbrei nicht ausschliesslich in Form von Proteinstoffen vorhanden. Dies ist wohl schon daraus zu schliessen, dass die Lösungen, welche beim Hineinbringen des frischen Futterbreies in Alcohol sich bilden, etwas Stickstoff enthalten; doch ist diese Stickstoffmenge nicht bedeutend. In dem in Alcohol unlöslichen Theil des Futterbreies fällt nur eine sehr geringe Stickstoffmenge auf nicht proteinartige Verbindungen; ein daraus dargestellter wässeriger Extract, durch Gerbsäurezusatz von den Proteinstoffen befreit, enthielt beim Königinnenfutterbrei d nur 0,35 % N, beim Drohnenfutterbrei g nur 0,14 % N (berechnet auf die Trockensubstanz des in Alcohol unlöslichen Theils des Futterbreies)[1]. Da die mir zur Verfügung stehende Materialmenge nicht hinreichte, um die verschiedenen Verbindungsformen, in denen der Stickstoff sich vorfindet, ermitteln zu können, so musste

---

1) Vom Gesammtstickstoff des in Alcohol unlöslichen Theils des Futterbreies fallen auf nicht proteinartige Verbindungen:

beim Königinnenfutterbrei d. . . . 2,66 %.
beim Drohnenfutterbrei g. . . . . 1,05 %.

ich den oben näher bezeichneten Weg wählen, um Zahlen für den Gesammtgehalt des Futterbreies an stickstoffhaltigen Substanzen zu erhalten (Zahlen, welche selbstverständlich nur annähernd richtig sein können). Uebrigens will ich im Folgenden die Zahlen angeben, welche für den Stickstoffgehalt der Trockensubstanzen der von mir untersuchten Futterbreisorten erhalten wurden:

| | | |
|---|---|---|
| Köniğinnenfutterbrei | a . . . . | 7,1461 %. |
| » | b . . . . | 7,7487 » |
| » | c . . . . | 7,3687 » |
| » | d . . . . | 6,6330 » |
| Drohnenfutterbrei | f . . . . | 8,9467 » |
| » | g . . . . | 5,0681 » |
| Arbeiterinnenfutterbrei | i . . . . | 8,1941 » |

## Königinnen-Futterbrei.

| | a) von München 1878. | b) von Zug (Schweiz) 1884. | c) von Zug (Schweiz) 1886. | d) von Kerns (Schweiz) 1887. | Mittel. |
|---|---|---|---|---|---|
| Wasser . . . . | 73,69 % | 67,83 % | 66,64 % | — | 69,38 % |
| Trockensubstanz . | 26,31 % | 32,17 % | 33.36 % | — | 30,62 % |

In der Trockensubstanz:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Stickstoffhalt. Stoffe | 44,66 %[1] | 48,41 %[1] | 46,05 %[3] | 41,45 %[2] | 45,14 % |
| Fett . . . . . . | — | 12,62 %[2] | — | 14,49 %[2] | 13,55 % |
| Glycose . . . . | — | 17,90 %[2] | — | 22,89 %[2] | 20,39 % |
| Asche . . . . . | — | 4,06 % | — | — | 4,06 % |

---

[1]) Zur Bestimmung diente die über Schwefelsäure getrocknete Substanz. Natürlich wurde das Resultat auf Trockensubstanz (bei 100° bestimmt) umgerechnet.

[2]) Zur Bestimmung diente die unter Alcohol-Aether bezw. Alcohol gebrachte Substanz.

[3]) Zur Beistimmung diente bei 100° getrocknete Substanz.

## Drohnen- und Arbeiterinnen-Futterbrei.

| | e) Drohnen[1]), von Kerns 1886. | f) Drohnen, unter 4 Tage alt, von Zug und Kerns 1887. | g) Drohnen, über 4 Tage alt, von Zug und Kerns 1887. | h) Arbeiterinnen, von Zug 1884. | i) Arbeiterinnen, von Zug 1886. |
|---|---|---|---|---|---|
| Wasser. . . . . | 72,75 % | — | — | — | 71,63 % |
| Trockensubstanz . | 27,25 % | — | — | — | 28,37 % |
| | | | **In der Trockensubstanz:** | | |
| Stickstoffhalt. Stoffe | — | 55,91 %[2]) | 31,67 %[2]) | — | 51,21 %[3]) |
| Fett . . . . . . | — | 11,90 %[2]) | 4,74 %[2]) | 6,84 %[2]) | — |
| Glycose . . . . | — | 9,57 %[2]) | 38,49 %[2]) | 27,65 %[2]) | — |
| Asche . . . . . | — | — | 2,02 % | — | — |

Aus den Zahlen der Tabellen ist zu ersehen, dass alle Futterbreisorten stickstoffreich sind. Die stickstoffhaltigen Stoffe (als Proteinstoffe mit 16 % N in Rechnung gestellt) machen bei denjenigen Futterbreisorten, welche keinen Pollenzusatz erhalten haben, der Quantität nach durchschnittlich ebenso viel aus, als alle übrigen organischen Stoffe zusammen, so dass also im Futterbrei ein sehr enges Nährstoffverhältniss (ungefähr wie 1 : 1) obwaltet. In der thierischen Milch ist bekanntlich das Nährstoffverhältniss ein viel weiteres; so finden sich z. B. in der Kuhmilch im Durchschnitt auf ein Theil Protein 2,7 Theile stickstofffreie Nährstoffe (Fett und Milchzucker) vor.

Ausser stickstoffhaltigen Stoffen, Zucker und Fett, scheinen im Futterbrei noch andere organische Stoffe vorhanden zu sein; denn die für die genannten Bestandtheile und für die Asche gefundenen Zahlen ergänzen sich nicht auf

[1]) Der Drohnenfutterbrei e) stammte theils aus den Zellen von jüngeren, theils aus denen von älteren Larven.

[2]) Zur Bestimmung diente die unter Alcohol-Aether bezw. Alcohol gebrachte Substanz.

[3]) Zur Bestimmung diente frische Substanz.

100 (wobei freilich zu beachten ist, dass die für den Gehalt des Futterbreies an stickstoffhaltigen Stoffen gefundenen Zahlen mit Fehlern behaftet sein können, weil sie nicht direct ermittelt, sondern durch die Multiplication des Gesammtstickstoffs mit 6,25 erhalten worden sind). Welcher Art diese andern organischen Stoffe sind, vermag ich nicht anzugeben (der Mangel an Material verhinderte mich, darüber Untersuchungen anzustellen). Constatirt wurde nur, dass keine durch Erhitzen mit Säuren in reducirenden Zucker überführbaren Kohlehydrate nachzuweisen waren[1]).

Im Futterbrei der über vier Tage alten Drohnenlarven, welcher viel Pollen enthält (wie früher schon erwähnt wurde), finden sich beträchtlich weniger stickstoffhaltige Stoffe und auch weniger Fett, als in den übrigen Futterbreisorten; dagegen ist er weit reicher an Zucker. Es ist sehr wahrscheinlich, dass dieser höhere Zuckergehalt durch einen Zusatz von Honig hervorgebracht worden ist; dass der den älteren Drohnenlarven gereichte Futterbrei Honig enthalte, wird auch von den Bienenzüchtern bestimmt behauptet. Dieser Honig wird aber offenbar nicht etwa dem fertigen Futterbrei zugesetzt, sondern ebenso wie der Pollen von den, den Futterbrei zubereitenden Bienen verschlungen und im Magen dem Futterbrei beigemischt[2]).

---

[1]) Auffallender Weise reducirten die Extracte nach dem Erhitzen mit sehr verdünnter Salzsäure die Fehling'sche Lösung etwas schwächer als vorher.

[2]) Bemerkenswerth ist auch, dass der Aetherauszug des festen (in Alcohol nicht löslichen) Theiles des Drohnenfutterbreies — über 4 Tage alt — aus reinem Wachs besteht. Consistenz, Farbe und Schmelzpunkt (63° C., siehe analyt. Beleg H) lassen darüber keinen Zweifel. Sämmtliche Fette in dem flüssigen Theil des alcoholischen Auszuges enthalten Fette von niederen Schmelzpunkten und salbenartiger Consistenz — so bei Königin, Drohnen (Beleg H) und Arbeiterinnen. Wachs ist in kaltem Alcohol nicht löslich, wohl aber in Aether. Bienenbrod (Pollen) liefert bei gleicher Behandlung und Bleichung genau das gleiche Wachs. Somit scheint man das Wachs in Futterbrei älterer Larven dem Pollen zuschreiben zu müssen. — Ob sich dieses fertige Wachs als solches im Leibe der Larven unmittelbar vor der Verpuppung vorfindet, gedenke ich näher zu untersuchen.

Ausser den in der Tabelle aufgeführten Futterbreien habe ich noch zwei Sorten von Drohnenfutterbrei untersucht, welcher theils aus den Zellen der jüngeren, theils aus denen der älteren stammte und demnach ein Gemisch von pollenfreier und pollenhaltiger Substanz war. Für den Gehalt an stickstoffhaltigen Stoffen und an Fett wurden folgende auf die Trockensubstanz des Futterbreies bezogene Zahlen gefunden (siehe analytische Belege):

| | Stickstoffhaltige Stoffe: | Fett: |
|---|---|---|
| Drohnenfutterbrei k . | 40,98 % | 7,85 %. |
| » e . | 39,91 % | 8.97 %. |

Die Zahlen liegen, wie man sieht, in der Mitte zwischen denjenigen, welche für den Gehalt der Drohnenfutterbreie f und g an Stickstoffverbindungen und an Fett gefunden wurden[1]).

Es ist eine nicht uninteressante Thatsache, dass alle Futterbreisorten nur Glycose (invertirten Zucker) enthalten, obgleich ich in allen bis jetzt von mir untersuchten Pollenarten nur Rohrzucker (daneben höchstens Spuren von Glycose) vorfand, so z. B. im Pollen von Coryllus avellana, Pinus sylvestris, von Narcissus pseudonarcissus, Sambucus nigra, Lilium bulbiferum, Lilium candidum, Lilium martagon, Portulaca grandiflora und Spiraea.

---

[1]) Herr Dr. Keller, Docent für Zoologie am Polytechnikum, hatte die Güte, für mich die Mägen von 4 Drohnenlarven, die unmittelbar vor der Einpuppung in Weingeist gelegt worden waren, heraus zu präpariren. Ebenso 4 Mägen von Drohnen, während der Flugzeit im Frühling. Der Inhalt der Madenmägen zeigte unter dem Microscope viele Pollen in allen Stadien der Veränderung — ganz entleerte, theilweise entleerte und auch gar nicht entleerte. Im Uebrigen fanden sich die Bestandtheile des Futterbreies vor; Zucker jedoch sehr wenig; um so mehr enthielt die weingeistige Lösung davon. Aehnlich verhielt sich der Mageninhalt der Drohnen. Auch er war reich an Eiweiss, enthielt Fett, allein ebenfalls wenig Zucker; um so mehr auch hier in der weingeistigen Lösung. So reich die Mägen der Maden an Pollen waren, so fand sich hier — wie bei der Königin — kein Korn. Die Drohnen werden bekanntlich wie die Königin mit fertig präparirtem Futterbrei von den Arbeiterinnen gefüttert.

Aus den Zahlen unserer Tabellen ergibt sich mit Sicherheit, dass der Futterbrei nicht immer die gleiche Zusammensetzung hat.

Allerdings zeigen sich nur geringe Differenzen im Gehalt der drei Futterbreiarten an Wasser und an Trockensubstanz; die dafür gefundenen Zahlen liegen so nahe beisammen, wie man von einem solchen Material erwarten kann, bei welchem die Jahreszeit, der Jahrgang selbst, die Volksstärke und verschiedene andere Momente des Bienenhaushalts eine bestimmende Rolle spielen. Ganz anders verhält es sich mit der Zusammensetzung der Trockensubstanz. Wir wollen in dieser Hinsicht zunächst nur diejenigen Futterbreisorten betrachten, welche keinen Zusatz von Pollen erhalten haben. Wir finden bei denselben beträchtliche Differenzen im Gehalt an den einzelnen Bestandtheilen. Der Drohnenfutterbrei f z. B. enthält 9,57 % Zucker, der Königinnenfutterbrei d dagegen 22,89 %, der Arbeiterinnenfutterbrei sogar 27,65 % Zucker. Im Drohnenfutterbrei f sind auf 1 Theil Zucker 5,8 Theile stickstoffhaltige Stoffe enthalten, im Königinnenfutterbrei d auf 1 Theil Zucker dagegen nur 1,8 Theile. Der Arbeiterinnenfutterbrei enthält 6,84, der Königinnenfutterbrei d dagegen 14,49 % Fett.

Diese Thatsachen bilden aber eine Stütze für die Ansicht Schönfeld's, dass der Futterbrei nicht aus den Kopfspeichel- und Thoraxdrüsen, sondern aus dem Chylusmagen der Bienen stammt. Wäre der Futterbrei gleich der Milch[1]) ein Drüsensecret, so müsste er doch wohl eine ziemlich constante Zusammensetzung besitzen; er könnte z. B. nicht in einem Falle auf 1 Theil Zucker 5,8 Theile, in einem zweiten Falle nur 1,8 Theile stickstoffhaltige Stoffe enthalten.

Mit der Annahme, dass der Futterbrei ein Product des Chylusmagens der Biene ist, stimmt dagegen die wechselnde Zusammensetzung desselben recht gut überein. Die Bienen benutzen bei der Bereitung des Futterbreies wie Fabrikanten bald mehr von dieser, bald mehr von jener Substanz, bald

---

1) Mit welcher man den Futterbrei mit Vorliebe verglichen hat.

mehr Pollen, bald mehr Honig, bald verdünnteren, bald concentrirteren Nektar.

Dass aber Futterbrei von solcher Zusammensetzung, wie sie bei meinen Untersuchungen sich ergeben hat, nicht ein Secret der Kopfspeicheldrüsen der Bienen sein kann, dafür kann ich noch einen weiteren Beweis beibringen. In einem schon vor mehreren Jahren ausgeführten Versuch habe ich 150 Bienenköpfe mit Glycerin in einem Mörser verrieben, die Flüssigkeit sodann mittelst der Wasserluftpumpe abgesogen und untersucht. In 20 Tropfen dieses Extracts liess sich keine Spur von Zucker nachweisen; wohl aber enthielt dieser Extract das Speichelferment; vermittelst desselben konnte Rohrzucker invertirt und sogar frisches Blutfibrin verdaut werden. Da demnach der Inhalt der Kopfspeicheldrüsen der Bienen gar keinen Zucker enthält, so kann der zuckerhaltige Futterbrei nicht Secret dieser Drüsen sein[1]).

Für die Ansicht Schönfeld's scheinen mir auf das Entschiedenste aber auch noch die Beobachtungen zu sprechen, welche in Betreff Futterbreies der über 4 Tage alten Drohnenlarven gemacht worden sind. Dieser Futterbrei enthält, wie früher erwähnt wurde, eine beträchtliche Menge von Pollenkörnern; die letzteren sind aber, wie ihr Aussehen unter dem Microscop beweist, grösstentheils ihres Inhaltes beraubt, also der Einwirkung von Verdauungsflüssigkeiten ausgesetzt gewesen. Dies kann aber doch wohl nur im Magen der den Futterbrei zubereitenden Bienen geschehen sein.

Von den über die Herkunft des Futterbreies ausgesprochenen Ansichten lässt sich also nur diejenige, für welche Schönfeld in die Schranken getreten ist, mit den Resultaten

---

1) Es braucht kaum gesagt zu werden, dass der Zuckergehalt des Futterbreies nicht von einer Vermengung mit Pollen herrühren kann. Abgesehen davon, dass der für Larven der ersten Altersstufen bestimmte Futterbrei Pollenkörner entweder gar nicht oder doch höchstens als zufällige Verunreinigung in ganz geringer Menge enthält, so ist bis jetzt nicht nachgewiesen, dass es Pollenkörner gibt, welche einen so hohen Zuckergehalt besitzen, wie ich ihn im Arbeiterinnen- und Königinnenfutterbrei gefunden habe.

der von mir ausgeführten chemischen Untersuchung des Futterbreies in Uebereinstimmung bringen.

Finden sich nun in der Zusammensetzung der zur Ernährung der Königinnen-, Drohnen- und Arbeiterinnenlarven verwendeten Futterbreiarten constante Unterschiede und ist demnach anzunehmen, dass die Bienen dem Futterbrei je nach dem Nährzweck, welchen derselbe erfüllen soll, eine bestimmte Zusammensetzung geben?

In wie weit diese Fragen zu bejahen sind, würde sich wohl mit mehr Sicherheit entscheiden lassen, wenn ich eine grössere Anzahl von Futterbreisorten auf ihren Gehalt an stickstoffhaltigen Stoffen, Zucker und Fett, hätte untersuchen können. Jedenfalls aber geht aus meinen Analysen hervor, dass die Drohnenlarven in ihren verschiedenen Altersstufen einen verschieden zusammengesetzten Futterbrei erhalten. Der Futterbrei der über 4 Tage alten Drohnenlarven unterscheidet sich von dem der jüngeren Larven sehr bedeutend im Gehalt an stickstoffhaltigen Stoffen, an Fett und an Zucker; die Unterschiede sind so gross, dass sie nimmermehr als zufällige angesehen werden können. Zudem aber enthält der den älteren Drohnenlarven gereichte Futterbrei viel Pollenkörner, während solche in demjenigen der jüngeren Larven fehlen. Daraus muss geschlossen werden, dass die Bienen den Futterbrei, welchen sie den älteren Drohnenlarven reichen, in anderer Weise zubereiten, als den für die Ernährung der jüngeren Larven bestimmten Futterbrei.

Auch bei Untersuchung der übrigen Futterbreisorten sind einige Resultate zu Tage getreten, welche der Bejahung der oben gestellten Fragen günstig zu sein scheinen. So scheint z. B. die Zusammensetzung des Königinnenfutterbreies eine ziemlich constante zu sein. Allerdings fand ich im Gehalt dieses Futterbreies an stickstoffhaltigen Stoffen Schwankungen von 41,45 bis 48,41 %; diese Schwankungen erniedrigen sich aber beträchtlich, wenn man die Zahlen auf den wasserhaltigen frischen Futterbrei umrechnet. Bei der Umrechnung

auf einen Futterbrei von 30% Trockengehalt würden sich z. B. für die stickstoffhaltigen Stoffe folgende Procent-Zahlen ergeben:

| | | |
|---|---|---|
| Futterbrei | a | 13,40 % |
| » | b | 14,52 » |
| » | c | 13,82 » |
| » | d | 12,44 » |

Die für den Gehalt des Königinnenfutterbreies an Fett und an Zucker gefundenen Zahlen zeigen gleichfalls keine sehr grossen Schwankungen, so dass die Annahme, es habe dieser Futterbrei eine ziemlich constante Zusammensetzung, wohl als eine nicht unberechtigte betrachtet werden kann.

Der Futterbrei der unter 4 Tage alten Drohnenlarven und derjenige der Arbeiterinnenlarven zeigen nun ferner in ihrer Zusammensetzung so beträchtliche Unterschiede vom Königinnenfutterbrei, dass man diese Unterschiede wohl nicht als zufällige ansehen kann; es ist vielmehr wahrscheinlich, dass die Bienen für die verschiedenen Larvengattungen verschiedenen Futterbrei zubereiten. Doch liesse sich, wie schon früher hervorgehoben worden ist, diese Frage erst mit völliger Sicherheit entscheiden, wenn eine grössere Anzahl von Futterbrei-Analysen vorliegen würde.

Uebrigens geht aus meinen Untersuchungen hervor, dass der Königinnenfutterbrei im Procentgehalt an Nährstoffen die übrigen Futterbreisorten nicht überragt. Allerdings waren zwei Sorten von Königinnenfutterbrei (Zug 1884 und 1886) etwas reicher an Trockensubstanz, als der Drohnen- und Arbeiterinnenfutterbrei; bei der dritten Probe aber trat das Gegentheil hervor. Ferner enthielten sowohl der Arbeiterinnenfutterbrei als der Futterbrei der jüngeren Drohnenlarven etwas mehr Stickstoff, als der Königinnenfutterbrei. Auch im Zuckergehalt steht der Arbeiterinnenfutterbrei voran.

Eine bessere Ernährung der Königinnenlarven gegenüber den Drohnen- und Arbeiterinnenlarven wird zweifellos vorzugsweise dadurch erreicht, dass die ersteren ein viel grösseres Quantum von Futterbrei erhalten. Wie bedeutend in dieser Hinsicht der Unterschied ist, lässt sich aus meinen Unter-

suchungen entnehmen, da das Gewicht des aus einer bestimmten Anzahl von Zellen erhaltenen Futterbreies bestimmt wurde. Die bezüglichen Zahlen theile ich im Folgenden mit:

A. Königinnen-Zellen:

1. 37 Zellen lieferten 3,7664 gr. frischen Futterbrei mit 0,9909 gr. Trockensubstanz.
2. 25 Zellen lieferten 1,8190 gr. frischen Futterbrei mit 0,5851 gr. Trockensubstanz.
3. 20 Zellen lieferten 4,1318 gr. frischen Futterbrei mit 1,3783 gr. Trockensubstanz.

B. Drohnen-Zellen:

260 Zellen lieferten 2,4927 gr. frischen Futterbrei mit 0,6792 gr. Trockensubstanz.

C. Arbeiterinnen-Zellen:

1100 Zellen lieferten 1,8406 gr. frischen Futterbrei mit 0,5221 gr. Trockensubstanz.

Berechnet man aus diesen Zahlen, wie viel Trockensubstanz der aus 100 Zellen erhaltene Futterbrei bei den verschiedenen Larvengattungen enthielt, so ergibt sich Folgendes:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 100 Königinnen-Zellen | lieferten | 3,6028 | gr. | Trockensubstanz. |
| 100 Drohnen- » | » | 0,2612 | » | » |
| 100 Arbeiterinnen- » | » | 0,0474 | » | » |

Allerdings entsprechen vorstehende Zahlen nicht den Futterbreiquantitäten, welche in den Zellen im Ganzen sich vorfanden; denn das Einsammeln des Futterbreies, insbesondere das Entfernen der Larven, liess sich nicht ohne Verlust bewerkstelligen[1]). Wenn aber auch die Zahlen in dieser Hinsicht nicht einwurfsfrei sind, so zeigen sie doch, wie ausserordentlich die Königinnenlarven gegenüber den anderen Larvengattungen bei der Ernährung bevorzugt werden.

Gegenüber den Arbeiterinnenlarven sind aber auch die Drohnenlarven in Bezug auf das Futterquantum stark be-

[1]) Es ist klar, dass dieser Verlust gerade dann sehr gross sein muss, wenn die Zellen wenig Futterbrei enthalten, wie es bei den Arbeiterinnen-Zellen der Fall ist. Betreffs Zellenzahl hielt ich mich an die Angaben der Herren Theiler und Wyndlin.

günstigt, wie aus obigen Zahlen hervorgeht. Offenbar sollen auch die Drohnen, welche die grössten der Bienenwesen sind, in ihrer Entwicklung möglichst rasch gefördert werden.

Uebrigens ist aus den im Vorigen angegebenen Zahlen zu ersehen, wie stark die einer Königinlarve gereichte Futterbreimenge schwanken kann. Die Bienenzüchter wissen dies längst. Sie sagen, dass jene Futterbreimenge je nach dem Alter der Königinlarve verschieden bemessen werde; insbesondere seien aber auch die Stärke des im Bienenstock vorhandenen Volkes, die Reichlichkeit der Tracht und ähnliche Momente von Einfluss.

Auch die den Drohnenlarven gereichte Futterbreiquantität kann nach Aussage der Bienenzüchter je nach den Umständen grossen Schwankungen unterliegen.

## Analytische Belege.

### a) Königin-Futterbrei München 1878.

Wasserbestimmung: 2,6382 gr. frische Substanz verloren über Schwefelsäure 1,5066 gr. = 57,11 % an Gewicht. 0,6180 des dabei erhaltenen Rückstandes verloren bei 100° noch 0,1025 gr. = 16,58 % an Gewtcht. Der Gesammtverlust beträgt also 73,69 %.

Stickstoffbestimmung: 0,9994 gr. frische Substanz gaben über Schwefelsäure getrockneten Rückstand 0,4287 gr. und diese gaben 0,0255618 N (= 6,6 cbcm. Barytwasser) = 5,9672 % N[1]).

Obige 0,4287 gr. lieferten Trockensubstanz = 0,3577 gr. = 7,1461 % N = 44,66 % Proteinstoffe.

Aschenbestimmung: 0,1838 Trockensubstanz gaben 0,0075 gr. Asche = 4,0669 %.

### b) Königin-Futterbrei Zug 1884.

Wasserbestimmung: 1,8190 gr. frische Substanz verloren über Schwefelsäure 1,2179 gr. = 66,95 % an Gewicht. Dieser Rückstand verlor bei 100° noch 0,0159 gr. = 0,88 %. Der Gesammtverlust beträgt also 67,83 %.

Stickstoffbestimmung: 1,8190 gr. frische Substanz gaben bei 100° getrocknet 0,5852 Trockensubstanz. 0,2163 gr. dieses Rückstandes gaben N = 0,0167604798 (= 4,03 cbcm. Barytwasser) = 7,7487 % N[2]) = 48,41 % Proteinstoffe.

---

[1]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,003873 gr. N.

[2]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,003897786 gr. N.

Fett- und Zuckerbestimmung: Futterbrei in Alcohol und Aether geworfen. Die dabei entstandene Lösung enthielt 0,6160 gr. Trockensubstanz, darin 0,1844 gr. Fett und 0,1424 gr. Zucker. Der feste Rückstand wog nach dem Trocknen 0,9036. Er enthielt 0,0075 gr. Fett und 0,1297 gr. Zucker.

### c) Königin-Futterbrei Zug 1886.

Wasserbestimmung: 4,1318 gr. frische Substanz verloren über Schwefelsäure 2,4432 gr. = 59,1316 % an Gewicht. Der hiebei erhaltene Rückstand = 1,6886 verlor bei 100° noch 0,3104 gr. = 7,5124 % an Gewicht. Der Gesammtverlust beträgt also 66,64 %.

Stickstoffbestimmung: 4,1318 gr. frische Substanz gaben bei 100° getrocknet 1,3782 gr. Hievon gaben 0,7516 gr. 0,0553839 gr. N (= 14,3 cbcm. Barytwasser) = 7,3687 % N[1]) = 46,05 % Eiweiss. Eine zweite Bestimmung ergab 46,04 % Proteinstoffe.

### d) Königin-Futterbrei Kerns (Obwalden) 1887.

Stickstoffbestimmung: Futterbrei in Alcohol geworfen. Die dabei entstandene Lösung enthielt 1,8794 Trockensubstanz. Davon lieferten 0,9397 gr. 0,00798750 N (= 3,55 cbcm. Barytwasser)[2]). Für obige 1,8794 Trockensubstanz = dem flüssigen Inhalt des Gläschens = 0,0159 N. Der feste Rückstand des Gläschens enthielt 1,7072 Trockensubstanz. Davon lieferten 0,7945 gr. 0,10332000 N (= 45,92 cbcm. Barytwasser)[3]). Für obige 1,7072 gr. Trockensubstanz = dem gesammten festen Inhalt des Gläschens = 0,2220 gr. N.

Die Addition der Stickstoffe ergibt:

0,0159 N in 1,8794 gr. Trockensubstanz des gesammten flüssigen Theiles des Gläschens,

0,2220 » » 1,7072 » Trockensubstanz des gesammten festen Theiles des Gläschens,

---

0,2379 N in 3,5866 gr. Trockensubstanz als Gesammtinhatt des Gläschens,

oder auf 100 gr. Trochensubstanz berechnet = 6,6330 N = 41,4562 gr. Proteinstoffe (mit 6,25 multiplicirt).

Fettbestimmung: Futterbrei von oben (in Weingeist geworfen). Die Lösung 124 cbcm. enthielt wie oben 1,8794 gr. Trockensubstanz. Davon in 62 cbcm. 0,2503 gr. Fett oder in 124 cbcm. = 1,8794 gr. Trockensubstanz = 0,5006 Fett. Der feste Theil des Gläscheninhaltes ist, laut oben = 1,7072 gr. Trockensubstanz. 0,8500 hievon lieferten 0,0097 gr. Fett, somit 1,7072 = 0,0194 gr. Fett.

[1]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,003873 gr. N.
[2]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,002250 gr. N.
[3]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,002250 gr. N.

Die Addition der Fette ergibt:

0,5006 Fett in 1,8794 gr. Trockensubstanz des gesammten flüssigen Theiles des Gläschens,

0,0194 » » 1,7072 » Trockensubstanz des gesammten festen Theiles des Gläschens,

0,5200 Fett in 3,5866 gr. Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.

Auf 100 Trockensubstanz berechnet = 14,4900 gr. Fett.

Zuckerbestimmung: Futterbrei von oben (in Weingeist geworfen). Die Lösung (124 cbcm.) enthielt wie oben 1,8794 gr. Trockensubstanz. Davon in 62 cbcm. 0,3905 gr. Zucker (titrimetrisch), somit in 124 cbcm. = 1,8794 = 0,7810 Zucker. Der feste Theil des Gläscheninhaltes ist laut oben = 1,7072 gr. Trockensubstanz. 0,8500 hievon lieferten 100 cbcm. Flüssigkeit. 40,4 cbcm. hievon lieferten 0,0139 metallisches Kupfer = 0,0081 gr. Traubenzucker nach Allihn; somit 100 cbcm. (gewonnen aus obigen 0,8500) = 0,0200 Traubenzucker oder in der Gesammttrockensubstanz des festen Theiles des Gläschens = 1,7072 sind enthalten 0,0401 gr. Traubenzucker.

Die Addition der Zuckerbesimmungen ergibt:

0,7810 Zucker in 1,8794 gr. Trockensubstanz des gesammten flüssigen Theiles des Glaschens,

0,0401 » » 1,7072 » Trockensubstanz des gesammten festen Theiles des Gläschens,

0,8211 Zucker in 3,5866 gr. Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.

Auf 100 gr. Trockensubstanz berechnet = 22,8935 gr. Zucker.

### k) Drohnen-Futterbrei Zug (Schweiz) 1884.

Stickstoffbestimmung: 0,2853 gr. Trockensubstanz gaben 0,0187093728 N (= 4,8 cbcm. Barytwasser) = 6,5577 % N[1]) = 40,98 % Proteinstoffe.

Fett- und Zuckerbestimmung: Futterbrei in Alcohol und Aether geworfen. Die dabei entstandene Lösung enthielt 0,1300 Trockensubstanz, darin 0,0224 gr. Fett. Die Gesammttrockensubstanz betrug 0,2853 gr. Auf diese das Fett berechnet gibt 7,85 % Fett.

### e) Drohnen-Futterbrei Kerns (Obwalden) 1886.

Wasserbestimmung: 2,4927 gr. frische Substanz verloren über Schwefelsäure 1,6460 gr. = 66,0328 % an Gewicht. 0,8467 gr. des dabei erhaltenen Rückstandes verloren bei 100° noch 0,1676 gr. = 6,7236 % an Gewicht. Der Gesammtverlust betrug also 1,8136 = 72,75 % Wasser.

---

[1]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,003897786 gr. N.

Stickstoffbestimmmung: 2,6334 gr. frische Substanz gab 0,04589505 N (= 11,85 cbcm. Barytwasser) = 1,74 % N[1]). 100 frischer Futterbrei = 27,2436 Trockensubstanz; somit für 100 Trockensubstanz = 6,3868 N = 39,91 % Proteinstoffe.

Fettbestimmung: 0,6797 bei 100° getrockneter Futterbrei gab 0,0610 gr. Fett = 8,97 %.

**f) Drohnen-Futterbrei unter 4 Tage alt.**
(Obwalden 1887.)

Stickstoffbestimmung: Futterbrei in Alcohol geworfen. Die dabei entstandene Lösung enthielt 0,2966 Trockensubstanz. Davon lieferten 0,1483 gr. 0,00258750 N (= 1,15 cbcm. Barytwasser)[2]). Für obige 0,2966 gr. Trockensubstanz = dem flüssigen Inhalt des Gläschens = 0,00517500 N. Der feste Rückstand des Gläschens enthielt 0,4411 Trockensubstanz. Davon lieferten 0,2103 gr. 0,02902500 N (= 12,90 cbcm. Barytwasser)[2]). Für obige 0,4411 gr. Trockensubstanz = dem gesammten festen Inhalt des Gläschens = 0,0608 N.

Die Addition der Stickstoffe ergibt:

0,0052 N in 0,2966 Trockensubstanz des gesammten flüssigen Theiles des Gläschens,
0,0608 » » 0,4411 Trockensubstanz des gesammten festen Theiles des Gläschens,

0,0660 N in 0,7377 Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.
100 gr. Trockensubstanz = 8,9467 N = 55,91 gr. Proteinstoffe.

Fettbestimmung: Futterbrei von oben (in Weingeist geworfen). Die Lösung = 210 cbcm. = 0,2966 gr. Trockensubstanz, wie oben. Davon in 105 cbcm. = 0,1483 Trockensubstanz sind enthalten Fett = 0,0411 gr. oder in 0,2966 = 0,0822 Fett. Der feste Theil des Gläscheninhaltes ist laut oben = 0,4411 gr. Trockensubstanz. 0,1967 hievon lieferten Fett = 0,0025. Somit in 0,4411 = 0,0056 gr. Fett.

Die Addition der Fette ergibt:

0,0822 Fett in 0,2966 Trockensubstanz der Gesammtflüssigkeit des Gläschens.
0,0056 » » 0,4411 Trockensubstanz des gesammten festen Theiles des Gläschens,

0,0878 Fett in 0,7377 Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.
100 Trockensubstanz = 11,9018 gr. Fett.

Zuckerbestimmung: Futterbrei von oben (in Weingeist geworfen). Die Lösung = 210 cbcm. = 0,2966 Trockensubstanz wie bei Fett.

---

1) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,003873 gr. N.
2) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,002250 gr. N.

Davon lieferten 105 cbcm. = 0,1483 Trockensubstanz metallisches Kupfer = 0,0691 gr. = 0,0353 gr. Zucker (Allihn); somit die Gesammttrockensubstanz des flüssigen Theiles = 0,2966 gr. geben Zucker = 0,0706. Der feste Theil ergab keine bestimmbare Menge Zucker.

Addition der Zuckerbestimmungen:

0,0706 Zucker in 0,2966 Trockensubstanz des gesammten flüssigen Theiles des Gläschens,
0,0000 » » 0,4411 Trockensubstanz des gesammten festen Theiles des Gläschens,

0,0706 Zucker in 0,7377 Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.

100 Trockensubstanz = 9,57 Zucker.

### g) Drohnen-Futterbrei über 4 Tage alt.
(Obwalden 1887.)

Stickstoffbestimmung: Futterbrei in Alcohol geworfen. Die dabei entstandene Lösung enthielt 5,3400 gr. Davon lieferten 2,4920 gr. Trockensubstanz 0,01676250 N (= 7,45 cbcm. Barytwasser)[1]). Für obige 5,3400 gr. Trockensubstanz = dem flüssigen Inhalt des Gläschens = 0,0359. Der feste Rückstand des Gläschens enthielt 3,1029 Trockensubstanz. Davon lieferten 0,7311 gr. 0,09236250 N (= 41,05 cbcm. Barytwasser)[1]). Für obige 3,1029 gr. Trockensubstanz = dem gesammten festen Inhalt des Gläschens = 0,3920 N.

Die Addition der Stickstoffe ergibt:

0,0359 N sind enthalten in 5,3400 gr. Totaltrockensubstanz des flüssigen Theiles im Gläschen,
0,3920 » » » in 3,1029 gr. Totaltrockensubstanz des festen Theiles im Gläschen,

0,4279 N sind enthalten in 8,4429 gr. Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.

100 gr. Trockensubstanz = 5,0681 N = 31,67 Proteinstoffe.

Fettbestimmung: Futterbrei von oben (in Weingeist geworfen). Die Lösung = 300 cbcm. = 5,3400 Trockensubstanz. Davon enthalten 30 cbcm. 0,0325 gr. Fett, somit in 300 cbcm. = 5,3400 gr. Totaltrockensubstanz des flüssigen Theiles 0,3250 gr. Fett. Der feste Theil des Gläscheninhaltes beträgt laut oben 3,1029 gr. 1,3743 gr. hievon lieferten Fett 0,0335. Somit in 3,1029 gr. 0,0756 Fett.

---

[1]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,002250 gr. N.

Die Addition der Fette ergibt:

0,3250 Fett im flüssigen Theil von 5,3400 Trockensubstanz des Gläschens. Schmelzpunkt 34° C.,
0,0756 » » festen Theil von 3,1029 Trockensubstanz des Gläschens. Reines Wachs. Schmelzpunkt 63°,

0,4006 Fett in 8,4429 Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.

100 Trockensubstanz = 4,7448 Fett.

Zuckerbestimmung: Der Futterbrei von oben (in Weingeist geworfen). Die Lösung = 300 cbcm. = 5,3400 Trockensubstanz enthielt titrimetrisch bestimmt 3,1715 Zucker. Der feste Theil des Gläscheninhaltes ist laut oben 3,1029 Trockensubstanz. 1,3743 hievon gaben 0,0347 Zucker, somit in der Gesammttrockensubstanz des festen Theiles = 3,1029, 0,0783 Zucker.

Die Addition der Zuckerbestimmungen ergibt:

3,1715 Zucker in 5,3400 Gesammttrockensubstanz des flüssigen Theiles Drohnen über 4 Tage alt,
0,0783 » » 3,1029 Gesammttrockensubstanz des festen Theiles,

3,2498 Zucker in 8,4429 Gesammttrockensubstanz des Gläschens.

100 Trockensubstanz = 38,4915 Zucker.

### h) Arbeiterinnen-Futterbrei Zug 1884.

Fett- und Zuckerbestimmung: Futterbrei in Alcohol und Aether geworfen. Die dabei entstandene Lösung enthielt 0,3572 gr. Trockensubstanz. Darin 0,0168 gr. Fett und 0,1586 Zucker. Der feste Rückstand wog nach dem Trocknen 0,6296 gr.; er enthielt 0,0507 gr. Fett und 0,1143 gr. Zucker. Zusammen 6,84 % Fett und 27,65 % Zucker.

### i) Arbeiterinnen-Futterbrei Zug 1886.

Wasserbestimmung: 1,8406 gr. frische Substanz verloren über Schwefelsäure 1,2274 gr. = 66,6847 % an Gewicht. 0,6132 des dabei erhaltenen Rückstandes verloren bei 100° noch 0,0912 = 4,9549 % an Gewicht. Der Gesammtverlust betrug also 1,3186 = 71,63 % Wasser.

Stickstoffbestimmung: 2,1165 gr. frische Substanz gaben 0,0491871 gr. N (= 12,70 cbcm. Barytwasser) = 2,32 % N[1]).

100 frische Substanz = 28,37 % Trockensubstanz, somit in 100 Trockensubstanz = 8,1941 % N = 51,21 % Proteinstoffe.

[1]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,003873 gr. N.

## Bestimmung der auf nicht proteinartige Verbindungen fallenden Stickstoffmengen in dem in Alcohol unlöslichen Theil des Futterbreies.

Eine abgewogene Substanzmenge wurde mit Wasser übergossen, eine Zeit lang im Wasserbade erwärmt, nach Zusatz von etwas Gerbsäurelösung filtrirt. Filtrat und Waschwasser wurden mit Salzsäure schwach angesäuert, eingedunstet und sodann zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl's Methode verwendet.

1. Königinnenfutterbrei: 0,2428 gr. Trockensubstanz gaben 0,0008499 gr. N (= 0,3 cbcm. Barytwasser)[1].
2. Drohnenfutterbrei g: 0,6294 gr. Trockensubstanz gaben 0,0008499 gr. N (= 0,3 cbcm. Barytwasser).

---

[1]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,002833 gr. N.

# Ueber Furfurolreactionen.

Von

**Dr. Ladislaus v. Udránszky.**

I. Mittheilung.

(Der Redaction zugegangen am 1. März 1888.)

## I. Ueber diejenigen Substanzen, welche mit Furfurol und Säuren Farbstoffe bilden.

Die Fähigkeit des Furfurols, unter der Einwirkung von Oxydationsmitteln, Säuren etc. mit verschiedenen Körpern, vorzüglich aber mit Phenolen und mit Basen der aromatischen Reihe, prachtvoll gefärbte Verbindungen zu liefern, ist besonders durch die Arbeiten von Baeyer[1]), Stenhouse[2]) und Schiff[3]) genauer bekannt geworden. Für die physiologische Chemie gewann das Furfurol ein besonderes Interesse durch die Untersuchungen von Mylius[4]), der den Nachweis geführt hat, dass die Entstehung der kirschrothen, — bis blauen Färbung, welche bei der Pettenkofer'schen Reaction als Erkennungszeichen für die Anwesenheit von Gallensäuren gilt, ihre Erklärung darin findet, dass aus dem zur Reaction angewendeten Rohrzucker unter der Einwirkung der concentrirten Schwefelsäure Furfurol abgespalten wird, und dieses dann mit den Gallensäuren schön gefärbte Reactionsproducte gibt. Derselbe Forscher zeigte dann ferner, dass nicht nur die Gallensäuren, sondern auch noch andere, verschiedenen

---

1) Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. V, S. 26.

2) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. CLVI, S. 197.

3) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. CCI, S. 355.

4) Diese Zeitschr., Bd. XI, S. 492.

Gruppen chemischer Körper angehörige Substanzen mit Furfurol und conc. Schwefelsäure ähnliche oder ganz gleiche Farbenerscheinungen erkennen lassen. Speciell verhielten sich Isopropylalkohol, Isobutylalkohol, Allylalkohol, Trimethylcarbinol, Dimethyläthylcarbinol, Amylalkohol, Oelsäure und Petroleum ganz den Gallensäuren analog, während mit Aethylalkohol, norm. Propylalkohol, Caprylalkohol, Essigsäure, Isobuttersäure, Acroleïn und Benzol keine Färbung zu erzielen war. Die Reaction ist mit der Cholsäure immerhin bei Weitem empfindlicher, wie mit den angeführten Substanzen, indem auf jenem Wege noch 0,000025 gr. Furfurol mit recht grosser Sicherheit nachzuweisen sind.

Herr Prof. Baumann hat im Einverständniss mit Herrn Dr. Mylius es mir zur Aufgabe gestellt, in dieser Richtung weitere Untersuchungen auszuführen.

Es erschien zweckmässig, zunächst die Versuchsanordnung festzustellen, bei welcher die Reactionen am leichtesten und am deutlichsten verlaufen, welche aber andererseits auch für die Vergleichung der einzelnen Resultate die grösste Bequemlichkeit und Sicherheit bietet. Nach verschiedenen Vorversuchen wurde das folgende Verfahren ausschliesslich beibehalten. Es wurde von der zu untersuchenden Substanz ein Körnchen, wenn sie flüssig war ein Tropfen, im Reagensglase in 1 cbcm. Wasser oder Alkohol gelöst oder suspendirt, nachher mit einem Tropfen Furfurolwasser versetzt, und schliesslich wurde concentrirte Schwefelsäure vorsichtig unter die Flüssigkeit geschichtet. Um eine allzu heftige Einwirkung der starken Mineralsäure zu vermeiden, wurde das Gemisch an der Wasserleitung abgekühlt, so dass die Temperatur der Flüssigkeit nie über 50° C. kam.

Es war auch nothwendig, die Concentration des zur Anwendung genommenen Furfurolwassers zu bestimmen, um so mehr, da — wie der Versuch es zeigte — zu concentrirte wässerige Lösungen von Furfurol[1]) schon allein mit der

[1]) Das Furfurol wurde immer durch Destillation gereinigt, und nur das farblose Destillat zu den Versuchen verwendet.

Schwefelsäure eine Färbung geben können. Es wurden daher Furfurollösungen von facultativ steigender Concentration angefertigt und diese immer aus einem und demselben Tropfenzähler zur Reaction angewandt. Durchschnittsgewichtsbestimmungen von 20—30 Tropfen dienten zur Controlle der Berechnungen.

Es stellte sich nun heraus, dass ein Tropfen eines 2,2procentigen Furfurolwassers mit 1 cbcm. Wasser und 1 cbcm. concentrirter Schwefelsäure vermischt, schon eine lichtgelbe Färbung bedingt. Die Intensität dieser Färbung steigt mit der Concentration, und ein Tropfen eines 4,4procentigen Furfurolwassers gibt mit 1 cbcm. Wasser und 1 cbcm. concentrirter Schwefelsäure schon eine so dunkle (orange- bis ziegelrothe) Färbung, dass diese auf die Erkennung von durch andere Substanzen bedingten Farbenreactionen störend einwirkt. Aus diesen Versuchen ist es also hervorgegangen, dass unter den gegebenen Verhältnissen die Concentration des Furfurolwassers unterhalb 2,2 % bleiben muss, wenn man keinen störenden Einfluss von Seiten des Furfurols haben will[1]).

Die untere Grenze der Concentration von dem anzuwendenden Furfurolwasser ist für den Nachweis der Cholsäure durch die schon angeführte Bestimmung von Mylius gegeben. 0,000025 gr. Furfurol entsprachen bei meiner Versuchsanordnung einem Tropfen eines 0,042procentigen Furfurolwassers. Da aber — wie es Mylius ebenfalls schon hervorgehoben — die Furfurolreaction mit der Cholsäure viel empfindlicher ist wie mit anderen bisher untersuchten Substanzen, so musste die Concentration des anzuwendenden Furfurolwassers höher gegriffen werden. Nach meinen Erfahrungen ist 0,5procentiges Furfurolwasser für die meisten

---

[1]) Dies ist auch schon darum nothwendig, weil mit Schwefelsäure versetzte concentrirte Furfurollösungen nach eingetretener Rothfärbung einen mehr oder weniger ausgeprägten Absorptionsstreifen bei D zeigen, diese Erscheinung also die spectroscopische Beurtheilung der mit gewissen anderen Substanzen ausgeführten Reactionen stören würde.

Reactionen geeignet, und ich bediente mich fortan einer solchen Furfurollösung.

Die Färbungen, welche bei diesen Reactionen eintreten, zeigen sehr bedeutende Unterschiede, je nachdem verfahren wird. In den folgenden Tabellen sind diejenigen untersuchten Substanzen aufgezählt, welche ganz ähnliche, oder nur in geringem Maasse abweichende Färbungen geben, wie jene, welche mit Gallensäuren, Furfurolwasser und concentrirter Schwefelsäure zu erzielen sind. Es soll noch einmal hervorgehoben werden, dass die Angaben sich nur auf die Versuchsanordnung beziehen, welche weiter oben auseinandergesetzt wurde. Da einige von diesen Körpern schon allein mit Schwefelsäure eine Färbung zeigen, so sind diese Erscheinungen auch mit angeführt.

Die Hoffnung, in der Furfurolreaction eine «Klassenreaction» zu finden, durch sie also gewissermassen einen Aufschluss über die Constitution mancher Körper zu gewinnen, hat sich nicht bewahrheitet. Darum sind die von mir untersuchten verschiedenen Substanzen nur in alphabetischer Ordnung aufgezählt.

| | Mit Furfurol und Schwefelsäure: | Mit Schwefelsäure allein: |
|---|---|---|
| Acetal. . . . . . | Schöne kirschrothe Färbung, welche aber sehr bald in Braun übergeht. | Bernsteingelbe Färbung. |
| Acetaldehyd . . . | Lebhaft kirschrothe Färbung, welche bald bräunlich wird. | Ganz gleiche Farbenerscheinungen. |
| Acetessigester . . | Rhumrothe Färbung. | Keine Färbung. |
| Aceton . . . . . | Hell kirschrothe Färbung. | Bernsteingelbe Färbung. |
| Aethylenglycol . . | Lebhaft himbeerrothe Färbung. | Keine Färbung. |
| Aepfelsäure . . . | Hell rosarothe Färbung. | Keine Färbung. |
| Alizarin . . . . . | Himbeerrothe Färbung. | Ganz gleiche Färbung. |

| | Mit Furfurol und Schwefelsäure: | Mit Schwefelsäure allein: |
|---|---|---|
| Amylnitrit. . . . | Dunkel pfirsichrothe Färbung, welche bald in Blau übergeht. | Bernsteingelbe Färbung. |
| Anilidoessigsäure. | Veilchenblaue Färbung. | Keine Färbung. |
| Anilin. . . . . . | Der Niederschlag von Anilinsulfat färbt sich lebhaft roth, löst sich alsbald in der Schwefelsäure. | Schwach gelbe Färbung. |
| Anisaldehyd . . . | Bräunlich rothe Färbung. | Ganz gleiche Färbung. |
| Anthracen . . . . | Die ursprünglich schwach grüne Färbung geht bald in Roth und Veilchenblau über. | Grüne u. dann schmutzig graue Färbung. |
| Anthrachinon . . | Hell rother und darunter grüner Farbenring. | Grüne Färbung. |
| Apomorphin . . . | Blutrothe, später blaue Färbung. | Hell rothe Färbung. |
| Atropin . . . . . | Hell rosarothe Färbung. | Keine Färbung. |
| Benzaldehyd . . . | Lebhaft rothe Färbung. | Ganz gleiche Färbung. |
| Borneol . . . . . | Dunkel pfirsichrothe Färbung, welche bald in Violett, schliesslich in Blau übergeht. | Schwach grüngelbe Färbung. |
| Brenzcatechin . . | Tief kirschrothe, später violette Färbung. | Schmutzig bräunliche Färbung. |
| Brucin . . . . . | Hell violetter und darüber ein grüner Farbenring. | Schwach gelbe Färbung. |
| Chinasäure . . . | Hell veilchenviolette Färbung. | Schwach grüne Färbung. |
| Cholesterin . . . | Lebhaft rothe, später blaue Färbung. | Hell braune Färbung. |
| Cinchonin . . . . | Hell rosarothe Färbung. | Keine Färbung. |
| Codein . . . . . | Veilchenblaue Färbung. | Nach längerem Stehen blaue Färbung. |

| | Mit Furfurol und Schwefelsäure: | Mit Schwefelsäure allein: |
|---|---|---|
| Coniferin . . . . | Dunkel kirschrothe Färbung, welche sehr bald in Violett übergeht. | Ganz gleiche Färbung. |
| Coniin. . . . . . | Bräunlichrothe, nicht characteristische Färbung. | Schwach gelbe Färbung. |
| Cumarin. . . . . | Hell violette Färbung. | Keine Färbung. |
| Cyanursäure . . . | Hell himbeerrothe Färbung. | Keine Färbung. |
| Cymol. . . . . . | Tief kirschrothe, später blaue Färbung. | Hell bräunliche Färbung. |
| Digitalin . . . . | Schöne veilchenviolette Färbung. | Sehr ähnliche Färbung. |
| Dimethylanilin . . | Hell rosarothe Färbung. | Keine Färbung. |
| Dioxyweinsäure. . | Schwach rothe Färbung. | Hell gelbe Färbung. |
| Diphenylamin . . | Dunkel himbeerrothe Färbung. | Schwach grüne Färbung. |
| Gallussäure . . . | Hell violette Färbung. | Keine Färbung. |
| Japancampher . . | Dunkel kirschrothe, später veilchenblaue Färbung. | Kaum erkennb. Gelbfärbung. |
| Kresol. . . . . . | Hell rothe, später violette, schliesslich blaue Färbung. | Keine Färbung. |
| Lävulinsäure. . . | Schwach rother, darunter ein bernsteingelber Farbenring. | Schwach gelbe Färbung. |
| Mesitylen . . . . | Tief kirschrothe, später violette Färbung. | Hell braune Färbung. |
| Mesityloxyd . . . | Himbeerrothe, später blaue Färbung. | Hell rhumrothe Färbung. |
| Metaldehyd . . . | Lebhaft kirschrothe Färbung, welche bald bräunlich wird. | Ganz gleiche Farbenerscheinungen. |
| Methylalkohol . . | Hell kirschrothe, später violette Färbung. | Keine Färbung. |

| | Mit Furfurol und Schwefelsäure: | Mit Schwefelsäure allein: |
|---|---|---|
| Methylhydantoin . | Hell violette Färbung. | Keine Färbung. |
| Monomethylanilin. | Rother, darunter ein grüner Farbenring. Der letztere verblasst bald, während die rothe Färbung andauert. | Ganz gleiche Farbenerscheinungen. |
| Morphin . . . . . | Himbeerrothe, später bläuliche Färbung. | Kaum bemerkb. Rothfärbung. |
| Naphthalin. . . . | Röthlichgelbe Färbung. | Gleiche Färbung. |
| α-Naphthol . . . | Prachtvoll violetter, darunter grüner Farbenring. | Grüne Färbung. |
| α-Naphthoskatol . | Himbeerrother, darunter dunkelblaugrüner Farbenring. | Schwach rosarothe Färbung. |
| Oenanthol . . . | Tief kirschrothe, später violette Färbung. | Bernsteingelbe Färbung. |
| Orcin . . . . . . | Kirschrother, darüber blaugrüner Farbenring. | Schwach grüngelbe Färbung. |
| Paraldehyd . . . | Lebhaft kirschrothe Färbung, welche bald bräunlich wird. | Ganz gleiche Farbenerscheinungen. |
| Paraffin . . . . . | Schwach rosenrothe Färbung. | Keine Färbung. |
| Phenanthren . . . | Veilchenvioletter, darunter ein grüner Farbenring. | Schmutzig grüne Färbung. |
| Phenanthrenchinon | Kirschrother, darüber ein blaugrüner Farbenring. | Ganz gleiche Farbenerscheinungen. |
| Phenol . . . . . | Kirschrothe, später blaue Färbung. | Keine Färbung. |
| Phenylhydrazin. . | Kirschrother, darüber grüner Farbenring. | Bräunliche Färbung. |
| Phloroglucin . . . | Himbeerrother, darüber blaugrüner Farbenring. | Schwach gelbe Färbung. |
| Phoron . . . . . | Tief rothe, später blaue Färbung. | Grüne Färbung. |

| | Mit Furfurol und Schwefelsäure: | Mit Schwefelsäure allein: |
|---|---|---|
| Propylaldehyd . . | Violette Färbung, welche aber sehr bald in Braun übergeht. | Braune Färbung. |
| Protocatechusäure | Violette Färbung, welche bald in Braun übergeht. | Schwach grüne Färbung. |
| Pyrogallussäure . | Lebhaft himbeerrothe, später violette Färbung. | Keine Färbung. |
| Resorcin. . . . . | Bräunlichrother und darüber ein blaugrüner Farbenring. | Rosenrothe Färbung. |
| Salicylaldehyd . . | Lebhaft kirschrothe Färbung. | Ganz gleiche Färbung. |
| Salicylsäure . . . | Hell rosenrothe Färbung. | Keine Färbung. |
| Skatol. . . . . . | Röthlichbraune, nicht sehr characteristische Färbung. | Gleiche Färbung. |
| Stearinsäure . . . | Hell himbeerrothe Färbung. | Schwach gelbe Färbung. |
| Strychnin . . . . | Schmutzig violetter, darunter ein grüner Farbenring. | Spur gelber Färbung. |
| Toluol. . . . . . | Tief himbeerrothe, später blaue Färbung. | Scharlachrothe Färbung. |
| Thymol . . . . . | Prachtvoll rubinrothe Färbung. | Grüngelbe Färbung. |
| Tyrosin . . . . . | Schwach rosenrothe Färbung. | Keine Färbung. |
| Valeraldehyd. . . | Blauer, darunter ein rothbrauner Farbenring. | Braune Färbung. |
| Vanillin . . . . . | Violetter, darunter ein grüner Farbenring. | Smaragdgrüne Färbung. |
| Vanillinsäure . . | Hell rosenrothe Färbung. | Keine Färbung. |
| Vaselin . . . . . | Hell himbeerrothe Färbung. | Keine Färbung. |

| | Mit Furfurol und Schwefelsäure: | Mit Schwefelsäure allein: |
|---|---|---|
| Veratrin. . . . . | Kirschrothe, später violette Färbung. | Rubinrothe Färbung. |
| m-Xylol . . . . . | Violetter, darunter ein hellgrüner Farbenring. | Grüngelbe Färbung. |
| p-Xylol . . . . . | Hell violette Färbung. | Gelbe Färbung. |
| Zimmtaldehyd . . | Kirschrothe, später violette Färbung. | Aehnliche Färbung. |

Im Gegensatz zu diesen war gar keine, oder eine von der der Gallensäuren ganz verschiedene Färbung bei den folgenden Substanzen zu beobachten:

Acetamid, Acetanilid, Acetophenon, Alloxan, Alloxantin, Asparaginsäure, Benzonitril, Benzoësäure, Bernsteinsäure, Blausäure, Brenztraubensäure, Brenzweinsäure, Buttersäure, Caffeïn, Capronsäure, Chinin, Chinolin, Chinon, Chinoxalin, Chloralhydrat, Chloroform, Citronensäure, Crotonsäure, Cyanamid, Dextrin, m-Dinitrophenol, Dinitrotoluidin, Dulcit, Essigsäureanhydrid, Formamid, Fumarsäure, Gährungsmilchsäure, Glycerin, Glycocoll, Glycolsäure, Glyoxalbisulfit, Harnsäure, Harnstoff[1]), Hippursäure, Hydrochinon, Isatin, Leucin, Malonsäure, Maltose, Mandelsäure, Mannit, Methylamin, o-Naphthoxindol, m-Nitranilin, o-Nitrobenzaldehyd, o-Nitrobenzoësäure, o-Nitro-

[1]) Es kann etwas befremdend erscheinen, dass ich bei dem Harnstoff keine Färbung bemerkte, während Schiff für denselben eine Reaction mit Furfurol und Salzsäure angegeben hat (Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. X, S. 773). Der Unterschied wird wohl der verschiedenen Menge und Concentration des angewendeten Furfurolwassers, sowie auch dem Umstande zuzuschreiben sein, dass Salzsäure und Schwefelsäure einen sehr verschiedenen Einfluss auf den Verlauf der Reaction nehmen. Nebenbei soll hier noch erwähnt werden, dass bei einer nach Schiff's Vorschriften mit fast gesättigtem Furfurolwasser und Salzsäure von 1,1 spec. Gew. ausgeführten Harnstoffreaction in der violettroth gefärbten Flüssigkeit ein sehr scharf ausgeprägter Absorptionsstreifen bei D zu beobachten ist.

phenol, o-Nitrophenylpropiolsäure, Oxalsäure, Oxalsäureäthylester, Parabansäure, m-Phenylendiamin, Phenylessigsäure, Phthalsäureanhydrid, Picrotoxin, Pikrinsäure, Piperidin, Pyridin, Schleimsäure, Stärke, Tannin, Tetraoxäthylbenzidinchlorhydrat, Traubensäure, Traubenzucker, Trimethylamin, Urethan, Weinsäure, Xylidin[1]), Zimmtsäure.

Bei manchen in der tabellarischen Zusammenstellung vorgeführten Körpern war das Verhalten zu bemerken, dass aus der gleichmässig gefärbten Flüssigkeit nach längerem Stehen farbige Niederschläge sich ausschieden. Bei einigen Phenolen und ihnen nahestehenden Verbindungen war dies auch dadurch zu erreichen, dass man das Reactionsgemisch mit Wasser stark verdünnte. Man bekam auf diese Weise meistens eine flockige Fällung; der Niederschlag zeigte keine krystallinische Structur. Ausserdem war, wenn man auch möglichst vorsichtig und immer mit denselben Mengen die Reaction anstellte, die Farbe des Niederschlages nicht immer dieselbe. Dieser Unterschied der Färbung scheint von dem zeitlichen Verlauf der Einwirkung der concentrirten Schwefelsäure abzuhängen. Ich bekam aus Resorcin, Pyrogallussäure, Orcin und Phloroglucin mit Furfurol und concentrirter Schwefelsäure Niederschläge, welche die Farbenscala von Grün, Violett, Blau, Braun und Schwarz zeigten. Verbindungen des Furfurols mit Phenolen hat schon Baeyer[2]) beschrieben.

Bei einigen Reactionen waren auch specielle Spectralerscheinungen zu bemerken. So zeigte das Reactionsgemisch bei Anwendung von α-Naphthol, wenn es umgeschüttelt wurde und die Flüssigkeit eben eine pfirsichblüthen- bis himbeerrothe Farbe angenommen hatte, einen schmalen, nicht ganz scharfen Streifen in der Mitte zwischen D und E. Von F aus bis zum Rande war das ganze Spectrum verdunkelt.

---

1) Es soll hier hervorgehoben werden, wie auffällig es ist, dass das Xylidin sich bei dieser Versuchsanordnung negativ verhielt, während es mit Eisessig und Furfurol die schöne Schiff'sche Reaction (Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. XX, S. 540) gibt, auf welche übrigens im IV. Kapitel dieser Mittheilungen zurückgekommen werden soll.

2) L. c.

Ging die Verdunkelung der Flüssigkeit weiter, was meistens nach sehr kurzer Zeit eingetreten war, so verschwand der Streifen und gab einer diffusen, bis zu C reichenden Dämpfung Platz. Beim Aethylenglycol waren zwei recht scharf begrenzte Streifen zu bemerken, ein breiter bei E und ein schmaler bei F. m-Xylol zeigte zwei wenig deutliche Streifen, den einen bei D, den anderen zwischen b und F, Codein zwei schmale Streifen, den einen bei D, den zweiten zwischen E und b, Digitalin zwei etwas diffuse Streifen, den einen von E bis b, den zweiten bei F.

Auf diese Spectralerscheinungen muss grosses Gewicht gelegt werden; sie dienen eben zu genauen Unterscheidungen auch zwischen solchen Substanzen, welche sich bei der Furfurolreaction sonst vollkommen gleich verhalten. Aeusserer Verhältnisse wegen konnte ich keine präciseren Bestimmungen nach dieser Richtung hin ausführen.

Die Furfurolreactionen sind für manche Substanzen viel empfindlicher als andere Farbenprüfungen. Quantitative Bestimmungen mit einigen Phenolen (u. A. Resorcin, Phloroglucin) haben z. B. erwiesen, dass die Furfurolreaction schärfer und genauer ist, wie die Reaction mit Eisenchlorid.

Ich glaube die Behauptung aussprechen zu dürfen, dass die Furfurolreactionen bei den analytischen Untersuchungen gute Verwendung finden könnten. Ganz besonders wäre dies vom Vortheil bei solchen Reactionen, welche bis jetzt mit Rohrzucker und Schwefelsäure ausgeführt worden sind, so z. B. bei der Prüfung einiger Alkaloide. Dies ist ohne Weiteres einleuchtend, wenn man bedenkt, dass bei der Einwirkung concentrirter Schwefelsäure auf den Rohrzucker auch noch andere dunkelgefärbte Nebenproducte entstehen, welche die eigentlich entscheidende Färbung verdecken können. Diese unangenehmen Störungen entfallen bei der Anwendung von Furfurolwasser.

Beiläufig sei hier noch erwähnt, dass eine bereits 3 Monate alte Furfurollösung von 0,5 % die Farbenreactionen mit solcher Genauigkeit und Schärfe angibt, wie ein soeben bereitetes Furfurolwasser.

Durch Vergleichsbestimmungen wurde es festgestellt, dass einige von den hier untersuchten Substanzen noch viel empfindlichere Reagentien auf das Furfurol sind, wie die Cholsäure. So kann man mit α-Naphthol bei der beschriebenen Versuchsanordnung 0,0000026 gr. Furfurol noch mit recht grosser Sicherheit nachweisen. Beim Nachweis von 0,000004 gr. Furfurol erhält man noch eine so stark gefärbte Flüssigkeit, dass mit derselben die spectroscopische Untersuchung vorgenommen werden kann.

Es mag hier noch eine Beobachtung Erwähnung finden. Untersucht man rohen (aber nicht denaturirten) Spiritus in der Weise, dass man im Reagensglase unter den Alkohol conc. Schwefelsäure schichtet, dabei zugleich stark abkühlt, so findet man bei vielen Proben an der Berührungsfläche der Flüssigkeiten einen rothen bis bräunlichvioletten Farbenring. Stellt man den Versuch mit 90procentigem Alkohol an, so fällt er negativ aus; es war aber die Farbenerscheinung nach Zusatz von einem Tropfen Furfurolwasser auch bei solchem Weingeist in einigen Fällen wahrzunehmen. Wenn nun ein solcher Weingeist mit Thierkohle behandelt und dann von letzterer abdestillirt wurde, so war im Destillat mit Furfurol und Schwefelsäure keine Färbung mehr zu erzielen. Die Fähigkeit, mit Furfurol und Schwefelsäure zu Färbungen Veranlassung zu geben, kommt also im Weingeist Verunreinigungen zu, welche von der Thierkohle zurückgehalten werden.

Dass Rohspirituosen Furfurol enthalten und dass ihr Furfurolgehalt um so grösser ist, je mehr dieselben durch fuselige Beimengungen verunreinigt sind, — wurde von Förster[1]) ermittelt. Dieser Forscher wies auch nach, dass die Jorissen'sche Reaction[2]) auf Fuselöl (mit Anilin und Salzsäure) dem Furfurolgehalte dieses zuzuschreiben ist. Es ist nun leicht zu verstehen, dass der rohe Branntwein mit concentrirter Schwefelsäure Färbungen gibt: er enthält eben Fuselöl und gleichzeitig auch Furfurol.

---

1) Berichte d. deutch. chem. Ges., Jahrg. XV, S. 230 u. 324.
2) Ibid., Jahrg. XIII, S. 2439.

Für die Prüfung des Alkohols auf geringe Beimengungen von Fuselöl, ja vielleicht auf die Reinheit überhaupt, — bietet die Furfurolreaction ein ganz ausgezeichnetes Hülfsmittel. Wenn ein Alkohol die oben beschriebene Fufurolreaction nicht zeigt, so kann man mit Sicherheit schliessen, dass es ganz frei von Fuselöl ist, auch von Spuren dieser Körper, welche auf anderem Wege gar nicht nachzuweisen sind. Tritt die Furfurolreaction ein, so wird dann in den meisten Fällen auf einen Fuselgehalt zu schliessen sein. Man darf aber auch in diesem Falle nicht übersehen, dass auch noch andere Stoffe bei dieser Reaction betheiligt sein können. Hieher gehören besonders Substanzen, welche der Weingeist beim Aufbewahren in Holzgefässen annimmt. Ich habe in dieser Richtung einige Versuche mit verschiedenen Holzarten angestellt, so mit Hobelspähnen von der Eiche, Buche, Tanne, Fichte, Föhre, vom Nuss- und Kirschbaum. Wurden diese, mit vorher durch Thierkohle gereinigtem Weingeist einige Tage stehen gelassen, so gaben sie, besonders die Hobelspähne der Coniferen, demselben Stoffe ab, welche dann im Alkohol mit Furfurol und concentrirter Schwefelsäure zur Bildung von prachtvoll gefärbten Verbindungen führten.

Diese Erfahrungen brachten es natürlicherweise mit sich, dass ich nun fortan bei den Furfurolreactionen, zur Lösung der zu untersuchenden Substanzen, nur mit Thierkohle behandelten Weingeist verwendet habe.

---

### II. Die Fichtenspahnreaction.

Im vorhergehenden Capitel wurde es angeführt, dass sich das Coniferin mit Furfurol und concentrirter Schwefelsäure prachtvoll violett färbt. Tiemann und Haarmann[1]) haben schon die Beobachtung gemacht, dass ganz dieselbe Färbung eintritt, wenn man nur concentrirte Schwefelsäure auf das Coniferin einwirken lässt. Dies ist jetzt wohl so zu erklären, dass unter der Einwirkung der starken Mineralsäure

---

[1]) Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. VII, S. 610.

das Glycosid zerlegt, aus dem Kohlehydrat Furfurol abgespalten wird und dieses dann mit dem frei gewordenen Coniferylalkohol oder dessen Umwandlungsproducten die schön gefärbten Verbindungen liefert.

Nimmt man statt der Schwefelsäure concentrirte Salzsäure, und lässt diese auf das trockne Coniferin einwirken, so löst sich dasselbe zunächst in der Säure und die ursprünglich nur schwach gelb gefärbte Lösung nimmt allmälig eine rothe, violette, schliesslich blaue Farbe an. Mit Eintritt der letzterwähnten Färbung ist auch eine Trübung zu bemerken und es scheiden sich blaue harzige Tropfen aus. Die Reaction verläuft in einigen Secunden, wenn man das Coniferin mit der Salzsäure im Reagensglase erhitzt. Das Coniferin zeigt also allein mit Salzsäure befeuchtet ganz jene schön blaue Färbung, welche eintritt, wenn man auch noch Phenol zur Reaction verwendet.

Nach den Beobachtungen von Tiemann und Haarmann beruht die sogenannte «Fichtenspahnreaction» auf dem im Holze enthaltenen Coniferin. Wie oben angegeben, gibt dieses nach meinen Erfahrungen schon allein mit Salzsäure — in Folge der Bildung von Furfurol — eine intensiv blaue Färbung. Es schien daher von Interesse, zu ermitteln, ob und inwiefern diesen Verhältnissen auch bei der Anstellung von Fichtenspahnreactionen mit verschiedenen anderen Substanzen Rechnung zu tragen wäre.

Es wurden zu den Versuchen Hobelspähne aus dicken Stämmen von Pinus sylvestris, Abies excelsa und Abies pectinata verwendet.

Wurden diese Spähne mit concentrirter Salzsäure befeuchtet, oder in die Säure getaucht, so zeigten sie nur eine gelbe oder grüngelbe Färbung. Wurden sie aber mit der Salzsäure gekocht, so färbten sie sich recht bald rothgelb, roth, in vielen Fällen auch bläulichgrün. Die Färbung war ganz besonders intensiv an der Grenzschichte der Jahresringe zu beobachten. Dabei färbte sich auch die Säure schwach roth bis violett.

Man kann concentrirte Schwefelsäure zur Reaction nicht gut verwenden, da eine Verkohlung zu leicht eintritt. Spült man aber den Ueberschuss mit Wasser rasch weg, so ist an der Einwirkungsstelle der Säure ein blaugrüner, von verkohlten Theilchen durchsetzter Fleck zu sehen. Wirkt die Säure etwas länger ein, so ist die Verkohlung gewöhnlich sehr weit vorgeschritten; man kann aber auch noch in solchen Fällen um den verkohlten Fleck herum eine blaugrüne, schmale Zone bemerken.

Diese Versuche zeigen deutlich, dass Fichtenspähne zum Nachweis von Spuren von Phenol nicht geeignet sind, da sie schon allein mit Säure ähnliche Färbungen geben wie mit Phenol und Säure, und wenn auch diese Färbungen nicht immer unmittelbar eintreten, so können sie doch um so mehr zu Täuschungen führen, da selbst wenn man Phenol mit Salzsäure am Fichtenspahn zusammenbringt, die blaue Färbung oft nur sehr allmälig und unvollständig erscheint.

Es spricht aber noch ein anderer Umstand gegen die Verwendbarkeit der Fichtenspahnreaction. Bekanntlich liefert mit nur mässig verdünnter Schwefelsäure destillirtes Holz Furfurol. Ebenso kann man aus dem Holz mit Salzsäure Furfurol abtrennen. Zum Nachweis desselben diente die Cholsäure; als nun ein Fichtenspahn mit der Gallensäure und Salzsaure gekocht wurde, so nahm die Säure eine schön violettrothe Färbung an und es waren in dem mit Alkohol verdünnten Filtrate die characteristischen Spectralerscheinungen der Pettenkofer'schen Reaction zu erkennen.

Da das Furfurol mit vielen anderen Substanzen rothe bis blau gefärbte Verbindungen eingeht und andererseits im Holze, besonders im harzreichen Holze der Coniferen, verschiedene Substanzen enthalten sind, welche mit dem Furfurol ebenfalls reagiren — wie es im vorhergehenden Capitel angeführt wurde —, so ist es leicht einzusehen, dass alle diese möglichen Färbungen, nebst der Verfärbung des Coniferins, die für Phenol characteristisch gehaltene blaue Färbung unter Umständen ebenso verdecken, wie auch vortäuschen können.

Das bisher Gesagte deutet aber weiter darauf hin, mit welcher Vorsicht auch manche andere, mit einigen Benzolabkömmlingen ausgeführte Fichtenspahnreactionen beurtheilt werden müssen.

---

### III. Ueber die Furfurolreaction der Gallensäuren.

Bald nachdem Pettenkofer[1]) die seitdem nach ihm benannte Reaction auf Gallensäuren beschrieben und zugleich darauf hingewiesen hat, dass Eiweisssubstanzen mit Rohrzucker und Schwefelsäure ähnliche Färbungen erscheinen lassen, wurden mehrere Arbeiten publicirt, welche bekannt machten, dass ausser den Gallensäuren und Eiweisssubstanzen auch noch andere Körper sich in ähnlicher Weise verhalten. Kunde[2]), Max. Sigm. Schultze[3]) und Neukomm[4]), besonders aber E. Bischoff[5]), haben die möglichen Verwechselungen hervorgehoben. Es wurde festgestellt, dass Muskelfasern, Kuhmilch, Linsensubstanz, Oele, verschiedene Harze (Damar — Guajac — Benzoëharz), Campher, Cholesterin, Oelsäure, Amylalkohol, höhere Fettsäuren, Harnstoff etc. mit Rohrzucker und Schwefelsäure ganz gleiche oder wenigstens ähnliche Reactionen geben, wie die Gallensäuren.

Die verschiedenen von Neukomm, Bogomoloff[6]) Strassburg[7]) und Drechsel[8]) empfohlenen Modificationen suchten die Sicherheit der Reaction Verwechselungen gegenüber zu begründen.

Trotz dieser Modificationen der Pettenkofer'schen Probe blieb der Nachweis von Spuren von Gallensäuren in thierischen Flüssigkeiten, besonders im Harn, fortan unsicher durch Färbungen, welche andere Substanzen bei dieser Reaction

---

1) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. LII, S. 90.
2) Inaug.-Dissert., Berlin 1850.
3) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. LXXI, S. 266.
4) Vierteljahrsschrift der naturf. Gesellsch. in Zürich, 1860, S. 116.
5) Zeitschr. f. ration. Medicin (3), Bd. XXI, S. 125.
6) Centralblatt f. d. med. Wiss., Jahrg. VII, 1869, S. 486.
7) Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. IV, S. 461.
8) Journ. f. pract. Chemie, Bd. XXIV, S. 44.

geben. Um das Vorhandensein von geringen Mengen von Gallensäuren beispielsweise im Harn nachzuweisen, war es noch immer nöthig, die Gallensäuren aus dem Harn abzutrennen, womöglichst zu reinigen und dann erst die Reactionen auszuführen.

Da nun Mylius's Untersuchungen im Furfurolwasser ein scharfes, bemessbares und reines Reagens uns in die Hände gaben, schien es von Interesse, einige Fragen, welche sich an das Vorhandensein und Nachweis von Gallensäuren im Harn knüpfen, von diesem neuen Gesichtspunkte aus zu untersuchen.

### 1. Die Empfindlichkeit der Gallensäurereaction in reinen Lösungen.

Es wurde zu diesen Versuchen ein 0,1 procentiges Furfurolwasser verwendet. Diese Concentration ist ganz ausreichend, da nach den im I. Capitel dieser Mittheilungen schon erwähnten Bestimmungen von Mylius — dass 0,000025 gr. Furfurol durch Cholsäure noch nachgewiesen werden können — bei meiner Versuchsanordnung schon eine 0,042 procentige Furfurollösung zur Reaction benützt werden dürfte. Andererseits bringt man aber mit Verwendung eines 0,1 procentigen Furfurolwassers noch weitaus keinen Ueberschuss von Furfurol in die Reaction und hat dabei nicht zu befürchten, dass die Färbung sehr bald verdunkelt und zur spectroscopischen Untersuchung ungeeignet wird.

Es stellte sich nun heraus, dass die geringste Menge von Cholsäure, welche in 1 cbcm. Weingeist gelöst, mit einem Tropfen eines 0,1 procentigen Furfurolwassers und 1 cbcm. concentrirter Schwefelsäure noch nachgewiesen werden kann, zwischen 0,000033 und 0,00005 gr. schwankt. Hatte man nur 0,000033 gr. Cholsäure zur Reaction verwendet, so zeigte die Flüssigkeit nach längerem Stehen wohl eine pfirsichblüthenrothe Farbe, doch war sie zur spectroscopischen Untersuchung noch nicht geeignet; die Absorptionsstreifen waren aber deutlich hervorgetreten, sobald man schon 0,00005 gr. Cholsäure zum Versuch nahm.

## 2. Der Einfluss, welchen die Verwendung von Furfurolwasser oder von Rohrzucker auf den Verlauf der Gallensäurereaction hat.

Da nach unseren bisherigen Kenntnissen angenommen werden darf, dass aus dem Rohrzucker unter der Einwirkung der concentrirten Schwefelsäure wenigstens 1 % Furfurol abgespalten wird, so benützte ich zu dem Vergleiche, entsprechend dem 0,1 procentigen Furfurolwasser, je einen Tropfen einer 10 procentigen Rohrzuckerlösung. Es zeigte sich, dass in reinen weingeistigen Lösungen von Cholsäure (je 0,00005 gr. auf 1 cbcm.) die Schärfe der Reaction keinen Unterschied zeigt, ob man des Furfurolwassers oder einer entsprechend concentrirten Rohrzuckerlösung sich bedient. Nach diesem Ergebniss schiene die Anwendung von Furfurolwasser anstatt des Rohrzuckers bei der Pettenkofer'schen Probe keine wesentlichen Vortheile zu bieten; doch muss es beachtet werden, dass meine Angaben sich auf absolut reine Lösungen und äusserst geringe Mengen beziehen. Sobald dies nicht der Fall ist und man auch nicht Zeit hat — wie dies bei klinisch-diagnostischen Untersuchungen oft vorkommt —, die Probe mit der allergrössten Vorsicht und Genauigkeit auszuführen, so muss dem Furfurolwasser der Vorzug gegeben werden, weil mit diesem Reagens die übeln Folgen der allzu heftigen Einwirkung der Mineralsäure (Verkohlung) vermieden werden können.

## 3. Die Spectralerscheinungen der Furfurolreaction der Gallensäuren.

Nach meinen, mit Furfurolwasser und reinen weingeistigen Lösungen von Cholsäure angestellten Untersuchungen kann ich Schenk[1]) vollkommen beipflichten in dem, dass im Allgemeinen nur zwei Absorptionsstreifen zu beobachten sind: der Eine an der Linie F, und der Andere zwischen D und E, näher zur letzteren Liniengruppe, und dass in concentrirter Lösung nur

[1]) Anatom.-physiol. Untersuchungen von S. L. Schenk. Wien 1872. Im Referate in Maly's Jahresberichten über die Fortschritte der Thierchemie, Bd. II, S. 232.

mehr der Letztere zu sehen ist. Es ist aber zu bemerken, dass bei vorsichtiger Ausführung der Reaction, kurz nach Eintritt der Rothfärbung ein scharf begrenzter Absorptionsstreifen auch zwischen C und D, näher zur letzteren Linie, zu sehen war. Dieser Streifen verschwand in den meisten Fällen sehr bald — und zwar viel schneller in concentrirten als in verdünnten Lösungen —, und es hellte sich dann das Spectrum bis ohngefähr 55 vor E auf. Da bei dem schneeweissen Cholsäurealkoholat, welches zu den Versuchen diente, eine Verunreinigung durch Gallenfarbstoffe absolut nicht in Rede kommen konnte, so ist wohl für das Auftreten des Absorptionsstreifens bei D — wenigstens bezüglich der Reaction mit Cholsäure – nicht etwa ein beigemengter Gallenfarbstoff verantwortlich zu machen, wie dies Schenk den Angaben Bogomoloff's[1]) entgegenführte.

Die Zahl der bisher bekannten Körper, welche die Pettenkofer'sche Probe ebenfalls geben, ist eine recht grosse. Es liegt somit die Annahme nahe, dass auch noch andere Furfurolreactionen zu finden sein werden, welche ein ähnliches Spectrum zeigen, wie die Furfurolreaction der Gallensäuren. Alle diese Verhältnisse sind daher in Betracht zu ziehen, wenn man bei einer Pettenkofer'schen Probe die spectroscopische Untersuchung als diagnostisches Erkennungsmittel für Gallensäuren benützen will.

## 4. Der directe Nachweis von Gallensäuren im Harn.

Die Verdunkelung, welche zu beobachten ist, wenn man in gallensäurehaltigen Harnen die Pettenkofer'sche Probe mit Furfurolwasser und concentrirter Schwefelsäure ausführt, kann wohl zum Theil auf die weitgehenden Zersetzungen der Kohlehydratbestandtheile des Harns — bei welchen sich Huminsubstanzen bilden[2]) — zurückgeführt werden. Von dieser

---

[1]) Mit Hinweis auf seine im Medicinsky Westnik, 1867, beschriebenen Versuche: Centralblatt f. med. Wiss., VII. Jahrg., 1869, S. 532.

[2]) Vgl. diese Zeitschrift, Bd. XI, No. 6, und Bd. XII, No. 1 u. 2. Dass hierbei auch noch ein anderer Factor in Betracht kommt, soll in einer späteren Mittheilung erörtert werden.

Verdunkelung abgesehen, kann aber die characteristische Färbung der Furfurolreaction der Gallensäuren durch anderweitige Färbungen verdeckt werden, welche manche, im Harn stets oder nur eventuell enthaltene und mit Furfurol ebenfalls reagirende Substanzen hervorrufen können. Alle diese Störungen sind um so bedeutender, je grössere Mengen des Harns man zur Reaction verwendet. Es scheint vortheilhafter zu sein, die Pettenkofer'sche Probe mit nur geringen Mengen des Harns auszuführen.

Versuche, zu welchen mit Cholsäure versetzter normaler Harn benützt wurde, bestätigen diese Annahme. Es wurde normaler Harn mit so viel Cholsäure versetzt, dass ein Tropfen je 0,00006 gr. davon enthielt; dies entspricht einem Procentgehalte von 0,12 %. Wurde von solchem Harn ein Tropfen mit 1 cbcm. Wasser verdünnt, dann mit einem Tropfen Furfurolwasser und 1 cbcm. concentrirter Schwefelsäure versetzt, so trat nach kurzer Zeit eine schöne kirschrothe Färbung ein, welche auch ohne weitere Verdünnung die Spectralerscheinungen der Pettenkofer'schen Probe erkennen liess. Auch war in allen diesen Proben nach 24 Stunden eine dunkelblaue Färbung eingetreten: eine Erscheinung, welche in klinisch-propädeutischen Lehrbüchern bekanntlich vielfach für die sichere Erkennung der Gallensäuren als entscheidend angegeben wird.

Wurde zu dem Harn weniger Cholsäure zugesetzt, so traten alle die Schwierigkeiten auf, welche in den einleitenden Zeilen besprochen wurden. Dass die Untersuchung noch umständlicher wird, wenn der Harn auch noch reichlich Gallenfarbstoffe enthält, ist wohl einleuchtend.

Es sind in der Litteratur keine sicheren Angaben über die quantitative Ausscheidung von Gallensäuren bei Krankheiten vorhanden. Nach meinen Erfahrungen gelingt die Pettenkofer'sche Probe mit einem Tropfen icterischer Harne in nicht vielen Fällen. Ist es aber mit einem Tropfen des Harns nicht möglich, die Reaction zu erzielen, so gibt meistens selbst die Untersuchung grösserer Mengen des Harns bei der Pettenkofer'schen Probe kein sicheres Resultat. Dafür sprechen die klinischen Erfahrungen, dass man auch bisher in den meisten

Fällen gezwungen war, die Gallensäuren zunächst einigermassen zu isoliren und erst dann die Reaction anzustellen. Dies wäre auch in der Zukunft für alle zweifelhaften Fälle zu empfehlen, — und zwar um so mehr, da wir nun wissen, wie gross die Zahl derjenigen Substanzen ist, welche eine ähnliche Furfurolreaction geben und welche im Harn immer enthalten sind oder darin enthalten sein können.

### 5. Die Frage, ob Gallensäuren im normalen Harn vorkommen.

Vogel und Dragendorff[1]), sowie auch Höne[2]) glaubten auf Grund ihrer Untersuchungen diese Frage bejahen zu können, während Hoppe-Seyler[3]) zu ganz entgegengesetzter Ansicht hierüber gelangt ist.

Ich habe zunächst 2 Liter normalen Menschenharn nach Hoppe-Seyler's[4]) Vorschrift behandelt und bekam dann im eingeengten alkoholischen Auszug mit Aether zwar eine geringe Trübung, doch keine richtige Fällung; ebenso war wohl nach Anstellung der Pettenkofer'schen Probe (mit Furfurolwasser und conc. Schwefelsäure) eine schwache rothbraune Färbung eingetreten, doch es fehlten die characteristischen Spectralerscheinungen der Furfurolreaction der Gallensäuren und sie waren selbst nach öfters wiederholter Ausführung der Probe nicht zu beobachten.

Es wurde nun nach Vogel's Vorschriften verfahren, nur diente zum Versuch kein gewöhnlicher, sondern zur Syrupdicke eingedampfter Menschenharn. Von solchem habe ich 200 cbcm. mit Salzsäure versetzt und mit 50 cbcm. Chloroform kräftig durchgeschüttelt. Nachdem die Flüssigkeiten sich einigermassen getrennt haben, wurde der gallertige Chloroformauszug abgehoben, mit wenig Alkohol versetzt und ab-

---

[1]) Tageblatt der 45. Versammlung deutsch. Naturf. u. Aerzte in Leipzig, No. 5, S. 75. Im Referate in der Zeitschr. f. analyt. Chemie, Jahrg. XI, S. 467.

[2]) Ueber die Anwesenheit von Gallensäuren im physiolog. Harn. Inaug.-Dissert., Dorpat 1873.

[3]) Physiologische Chemie, IV. Theil, Berlin 1881, S. 865.

[4]) Handbuch d. physiol. u. path.-chem. Analyse, Berlin 1883, S. 399.

filtrirt. Nach dem Verdunsten des Chloroformauszuges wurde der Rückstand in absolutem Alkohol aufgenommen und die alkoholische Lösung auf ihr Verhalten bei der Pettenkofer-schen Probe geprüft. Die spectroscopische Untersuchung der schwach roth gefärbten Flüssigkeit hat keine für die Furfurolreaction der Gallensäuren characteristischen Absorptionserscheinungen erkennen lassen. Auf welche Körper die erwähnte Rothfärbung zurückzuführen sei, wurde nicht näher untersucht. Es wurde aber ein Theil von der alkoholischen Lösung verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst und mit Millon's Reagens geprüft. Die eingetretene Rothfärbung sprach für das Vorhandensein von Oxysäuren. Es ist daher sehr wahrscheinlich, dass zur Rothfärbung, welche in der alkoholischen Lösung des nach Vogel's Vorschrift bereiteten Chloroformauszugrückstandes bei der Anstellung der Pettenkofer'schen Probe zu bemerken war, die Oxysäuren auch wesentlich beigetragen haben.

Meine Versuche haben somit zu denselben Ergebnissen geführt, zu welchen früher schon Hoppe-Seyler gelangt ist, — dass also Gallensäuren im normalen Harn nicht enthalten sind —, sie geben aber zugleich auch eine einfache Erklärung der entgegengesetzten Beobachtungen von Vogel, Dragendorff und Höne.

In den folgenden Capiteln dieser Untersuchungen, welche der Redaction bereits zugestellt sind, soll gezeigt werden, dass die Furfurolreactionen zum Nachweis und zur Bestimmung von Kohlehydraten im Harn verwendet werden können, und dass man bei der Einwirkung von Mineralsäuren auf selbst die reinsten Eiweisskörper, Furfurol stets erhält.

# Ueber Furfurolreactionen.

Von

**Dr. Ladislaus v. Udránszky.**

II. Mittheilung.

(Der Redaction zugegangen am 1. März 1888.)

## IV. Ueber den Nachweis von Kohlehydraten im Menschenharn durch Furfurolbildung.

### 1. Enthält der normale Harn stets Kohlehydrate?

Die Frage, ob der normale Menschenharn Traubenzucker enthält, hat bisher, trotz der grossen Zahl der Forscher, welche sich an der Ermittelung dieser Verhältnisse betheiligt haben, noch keine endgültige Entscheidung gewonnen. Es ist noch Niemandem geglückt, selbst aus sehr grossen Mengen normalen Harns den Traubenzucker in Substanz darzustellen. Andererseits sind aber die geläufigen Zuckerreactionen keineswegs genügend scharf, um Spuren von Traubenzucker im Harn mit Sicherheit erkennen zu lassen.

Manche Angaben der neueren Litteratur machen es aber immer mehr wahrscheinlich, dass der physiologische Harn geringe Mengen von Kohlehydraten stets enthält. Abgesehen davon, dass nach Einfuhr grösserer Flüssigkeitsmengen in den Organismus Inosit im Harn erscheint, welcher von manchen Autoren sogar als normaler Harnbestandtheil angesehen wird, dass bei Wöchnerinnen und Säugenden Milchzucker im Harn gefunden wurde, sei hier darauf hingewiesen, dass Landwehr[1]) das sogenannte thierische Gummi als normalen Harn-

[1]) Centralblatt f. d. med. Wiss., 1885, No. 21.

bestandtheil beschrieben hat, und dass es durch meine, aus einem anderen Gesichtspunkte angestellten Untersuchungen[1]) bewiesen wurde, dass aus jedem normalen Harn durch gewisse Proceduren Huminsubstanzen abgeschieden und als deren Quelle nur Kohlehydratbestandtheile des normalen Harns angesehen werden können.

Der Umstand, dass nach unseren bisherigen Kenntnissen Furfurol aus allen Kohlehydraten und nur aus solchen gewonnen werden kann, brachte den Gedanken nahe, ob man die Pettenkofer'sche Probe auf Gallensäuren, welche wir seit Mylius's Untersuchungen ebenfalls als eine Furfurolreaction kennen gelernt haben, nicht gewissermassen umdrehen, d. h. die Gallensäuren dazu benützen könnte, um geringe Mengen von Kohlehydraten im Harn nachzuweisen. Die Schärfe der Pettenkofer'schen Reaction leidet aber wesentlich, wenn man nicht reine Lösungen, sondern etwa Harn zur Untersuchung verwendet. Meine Versuche scheiterten eben an der Undeutlickeit der Färbung von einer Furfurolreaction der Gallensäuren im Harn[2]). Ich war deshalb genöthigt, andere, noch schärfere und durch störende Agentien weniger beeinflussbare Furfurolreactionen zum Nachweise von Kohlehydraten im Harn zu verwenden.

Es erschien für solche Zwecke ganz geeignet eine Furfurolreaction, welche schon früher H. Schiff[3]) für die Erkennung geringer Mengen von Kohlehydraten im Allgemeinen empfohlen hat. Man vermischt nach seiner Vorschrift Xylidin mit dem gleichen Volum Eisessig, versetzt die Lösung mit etwas Alkohol und taucht dann in die Flüssigkeit Filtrirpapierstreifen ein. Wenn diese getrocknet, so sind sie zur Verwendung geeignet, welche darauf beruht, dass die Papiere mit geringsten Mengen Furfurol benetzt, durch die Bildung des Salzes vom Furoxylidin ($C_4H_3O \cdot CH \cdot (C_8H_8NH_2)_2$) prachtvoll rothgefärbt erscheinen. Um Kohlehydrate in irgend einer Substanz oder Flüssigkeit

---

1) Diese Zeitschrift, Bd. XI, No. 6, und Bd. XII, No. 1 u. 2.

2) Vgl. diese Zeitschrift, dies. Band, S. 373.

3) Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. XX, S. 540.

nachzuweisen, braucht man nur diese mit einem geringen Ueberschuss von concentrirter Schwefelsäure im Reagensrohr vorsichtig zu erhitzen und die ausströmenden Dämpfe durch einen in die Mündung des Reagensrohrs eingeschobenen Xylidinacetatpapierstreifen streichen zu lassen.

Es zeigte sich nun, dass durch Erhitzen mit der Säure aus jedem physiologischen Harn Furfurol gewonnen werden kann, und dass die Reaction in vielen Fällen gelingt, wenn man auch nur einen Tropfen des Harns dazu verwendet. Die von Baumann[1]) für die Abtrennung und Isolirung der Kohlehydrate in Vorschlag gebrachte Methode gab mir ferner die Möglichkeit, es noch stricter zu beweisen, dass die Röthung der Schiff'schen Reagenspapiere bei diesen Versuchen wirklich nur auf eine Abspaltung von Furfurol aus Kohlehydratbestandtheilen des normalen Harns zurückzuführen ist. Ich habe also den Harn mit Benzoylchlorid und 10procentiger Natronlauge wiederholt kräftig durchgeschüttelt und den Niederschlag dann von der Flüssigkeit abgetrennt. Das mit Phosphaten des Harns verunreinigte Benzoësäureestergemenge gab die Schiff'sche Furfurolreaction in einer sehr eclatanten Weise, während aus der Flüssigkeit nur dann zum Gelingen der Reaction genügende Mengen von Furfurol herausdestillirt werden konnten, wenn mehrere Cubikcentimeter mit der conc. Schwefelsäure erhitzt wurden. Der Umstand, dass der Harn, wenn auch in viel abgeschwächterem Maasse, selbst nach Abtrennung der Kohlehydrate in Form von Benzoësäureestern, die Furfurolreaction noch zeigte, kann nicht so gedeutet werden, dass durch Zersetzungsproducte anderer Harnbestandtheile die Schiff'schen Reagenspapiere ebenfalls geröthet werden können. Die Erklärung ist vielmehr dadurch gegeben, dass ein Theil von den Kohlehydraten der Benzoylirung gewöhnlich entgeht. Diese geringen Mengen können aber angesichts der grossen Empfindlichkeit der Furfurolreaction schon zur Nachweisbarkeit genügen.

---

1) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Jahrg. XIX S. 3218.

Es war also durch diese Versuche ermittelt, dass in jedem physiologischen Harn beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure Furfurol gebildet wird, somit ein weiterer Beweis dafür geliefert worden, dass im normalen Menschenharn Kohlehydrate stets vorkommen.

Es sei hier zugleich einer Beziehung der Furfurolbildung zu gewissen Farbenerscheinungen im Harn Erwähnung gethan. Das Furfurol gibt bekanntlich mit Leichtigkeit Veranlassung zu Färbungen verschiedenster Art. Es ist daher leicht denkbar, dass das im Harne unter dem Einfluss der Säure gebildete Furfurol mit manchen Bestandtheilen des Harns solche Färbungen bedingen kann. Dies wäre somit eine einfache Ergänzung der Erklärung, welche ich früher für das Zustandekommen der Dunkelfärbung in mit Säuren erhitzten Harnen gegeben habe, nämlich dass diese Verdunkelung durch Zersetzungsproducte der Kohlehydratbestandtheile des Harns — Huminsubstanzen — bedingt ist[1]).

Für den Nachweis von Kohlehydraten im Harn ist bei Weitem noch geeigneter wie die Schiff'sche Reaction die Furfurolreaction mit α-Naphthol und Schwefelsäure, welche bereits im I. Capitel dieser Mittheilungen besprochen wurde. Molisch[2]) hat für die Zwecke klinischer Harnuntersuchungen vor nicht sehr langer Zeit zwei Zuckerreactionen angegeben. Nach seinen Angaben tritt in mit Thymol oder α-Naphthol versetzten Harnen auf Zusatz von concentrirter Schwefelsäure eine characteristische sherry- bis rubinrothe, respective violette Färbung ein, welche nach Molisch's Ansicht durch das Vorhandensein von Traubenzucker im Harn bedingt ist. Nach meinen Untersuchungen unterliegt es nun keinem Zweifel, dass diese beiden Reactionen Molisch's in Wahrheit Furfurolreactionen sind, sie im Harn nur durch die Bildung von Fur-

---

1) A. a. O.

2) Sitzungsberichte der mathematisch-naturwissenschaftlichen Classe der kais. Akademie der Wissenschaften in Wien, XCIII. Band, II. Abthlg., S. 912.

furol zustandekommen und das Vorhandensein von Kohlehydraten überhaupt — und nicht des Traubenzuckers allein — mit Sicherheit anzeigen.

Die Färbung der Furfurolreaction mit Thymol und Schwefelsäure kann unter Umständen schwer zu unterscheiden sein von der Verfärbung des Harnes, welche schon nach Zusatz von Schwefelsäure allein eintritt. Die Violettfärbung bei der α-Naphthol-Reaction ist hingegen sicher und scharf zu erkennen. Diese Reaction ist auch äusserst empfindlich, so dass man mit ihr in einem einzigen Tropfen eines jeden normalen Harnes eine intensive Violettfärbung bekommt und bei passender Versuchsanordnung auch noch die spectroscopische Untersuchung vornehmen kann. Für die α-Naphthol-Reaction wurde mittelst der Baumann'schen Methode ebenfalls nachgewiesen, dass sie im Harn nur durch Kohlehydrate bedingt wird, welche in Form von Benzoësäureestern abgetrennt werden können.

Die Reaction von Molisch, welche ihr Autor keineswegs als Furfurolreaction erkannt hat, ebenso wie die Schiff-sche Furfurolreaction, geben somit ein sicheres Mittel an die Hand, um zu zeigen, dass der normale Menschenharn Kohlehydrat stets enthält. Stellt man diese Reactionen mit der von mir angegebenen Vorschrift und Bedingungen an (welche später noch ausführlicher besprochen werden), so gelingt es mit der Schiff'schen Reaction in vielen Fällen — mit der α-Naphthol-Reaction aber immer —, schon mit einem Tropfen eines jeden normalen Harnes, diesen Nachweis mit positivem Erfolge zu führen. Dieser Umstand scheint mir besonders deshalb bemerkenswerth zu sein, weil früher, um einen solchen Nachweis auf eine andere Weise zu gewinnen, oft viele Liter vom Harn verarbeitet worden sind, ohne dass sich dabei immer ein positives Resultat ergeben hätte.

Wenn somit das Vorhandensein von Kohlehydrat im normalen Menschenharn ausser Frage steht, so fehlt es doch noch an einem directen Nachweis darüber, ob das Kohlehydrat des Harns aus Traubenzucker — wie es auch Molisch anzunehmen scheint —, oder noch aus einem anderen, oder

mehreren Kohlehydraten besteht. Inwieweit besonders das von Landwehr beschriebene thierische Gummi bei diesen Reactionen betheiligt ist, darüber liegen noch keine Erfahrungen vor.

### 2. Die Verwendbarkeit der Furfurolreactionen zu einer annähernden quantitativen Bestimmung von Kohlehydraten im Harn.

Da selbst äusserst geringe Mengen eines jeden normalen Harnes beim Erhitzen mit concentr. Schwefelsäure Furfurol liefern, so ist es verständlich, dass keine Furfurolreaction dazu dienen kann, ohne Weiteres anzuzeigen, ob irgend ein Harn bezüglich seines Gehaltes an Kohlehydraten als normal oder als pathologisch betrachtet werden muss.

Molisch hat schon bei der von ihm empfohlenen Zuckerreaction gefunden, dass man den Harn verdünnen muss, wenn man mit Hülfe dieser Reaction die Unterscheidung normalen Harns vom pathologischen durchführen will. Seine Angaben sind aber viel zu wenig präcis, um seine Methode als eine nur annähernd quantitative betrachten zu lassen.

Es erschien aber wahrscheinlich, dass man die Furfurolreactionen, da wir nun über ihr Zustandekommen im Harn aufgeklärt sind, bei einer passenden Versuchsanordnung doch zu einer annähernden quantitativen Bestimmung der Kohlehydrate im Harn benützen könnte.

Eine bedeutende Schwierigkeit war dadurch gegeben, dass die Grenze zwischen physiologischer und pathologischer Kohlehydratausscheidung noch nicht sicher festgestellt ist. Man nennt im Allgemeinen einen Harn diabetisch, wenn irgend eine von den üblichen Zuckerreactionen positiv ausfällt und wenn dieser nachgewiesene Zuckergehalt nicht etwa auf eine, noch als physiologisch zu betrachtende, vorübergehende Zuckerausscheidung — z. B. auf eine «glycosurie alimentaire» — zurückgeführt werden kann.

Die Methoden, welche zur quantitativen Bestimmung des Traubenzuckers in diabetischen Harnen dienen und welche

nach den neueren Verbesserungen von Worm-Müller und Soxhlet u. A. für diesen Zweck einen bedeutenden Grad von Genauigkeit erreicht haben, sind nicht verlässlich oder gar nicht anwendbar in denjenigen Fällen, wo es sich um Bestimmung von Zuckerwerthen im Harn handelt, welche nur Zehntel Procente betragen.

Die Frage, ob ein Harn als diabetisch zu betrachten sei, wird daher in vielen Fällen nur durch eine qualitative Probe entschieden. Deshalb dürfte eine Reaction, welche leicht ausführbar eine annähernd genaue Abschätzung des Gehaltes an Kohlehydraten im Harn ermöglicht, nicht ohne Interesse sein.

Bei den im Folgenden beschriebenen Versuchen stellte ich mir zur Aufgabe, die Furfurolreactionen dem Zwecke und den Erfordernissen einer klinischen Harnuntersuchung anzupassen.

Aus der grossen Zahl der bekannt gewordenen Furfurolreactionen wählte ich zweie, die Schiff's mit Xylidinacetat, und die Furfurolreaction des α-Naphthols aus, da von diesen mehrfach erwiesen wurde, dass sie neben grosser Schärfe, Empfindlichkeit und Sicherheit, auch eine gewisse Bequemlichkeit für die practische Ausführung mit sich bringen.

Ich suchte zunächst mit Kohlehydratlösungen von bekanntem Procentgehalt bei einer bestimmten Versuchsanordnung festzustellen, wie weit die Empfindlichkeit dieser Furfurolreactionen reicht. Es wurde zu diesen Vergleichsversuchen immer je ein Tropfen[1]) von Traubenzuckerlösungen ver-

---

[1]) Ich wendete zu diesen Vergleichsversuchen ebenso, wie auch später zu den Harnreactionen darum nur je einen Tropfen und nicht grössere Quantitäten an, weil es bequemer ist, einen Tropfen aus einer Flüssigkeit zu nehmen, als etwa davon 1 oder mehrere Cubikcentimeter genau abzumessen. Ich überzeugte mich übrigens durch zahlreiche Versuche, dass die Grösse und das Gewicht des Tropfens sehr wenig variirt, wenn man aus einer und derselben Flüssigkeit den Tropfen auf verschiedene Weise nimmt. Für die Furfurolreaetionen hat aber die Anwendung nur eines Tropfens noch weitere Vortheile. Je kleiner die Menge der Flüssigkeit, um so leichter ist es, das gebildete Furfurol dar-

schiedener Concentration verwendet. Durchschnittgewichtsbestimmungen von 20—30 Tropfen sind den Berechnungen zu Grunde gelegt.

Für die Schiff'sche Furfurolreaction zeigte es sich nun, dass wenn man einen Tropfen einer 0,2 procentigen Traubenzuckerlösung mit 1 cbcm. concentrirter Schwefelsäure erhitzt, die Reaction noch gut gelingt. Wendet man dagegen einen Tropfen einer 0,16 procentigen Traubenzuckerlösung an, so wird die Röthung der Reagenspapiere schon schwächer und mit einem Tropfen einer 0,13 procentigen Traubenzuckerlösung tritt die Reaction nicht mehr deutlich ein. Die Menge des bei dieser Versuchsanordnung mit Hülfe der Schiffschen Furfurolreaction noch nachweisbaren Traubenzuckers variirt nach der Berechnung zwischen 0,00007 gr. und 0,000088 gr.[1]).

Nach der grossen Empfindlichkeit, welche für die $\alpha$-Naphthol-Reaction bei dem Nachweise des Furfurols gefunden wurde[2]), war es schon a priori anzunehmen, dass diese Reaction auch bei der Untersuchung von Traubenzuckerlösungen die Schiff'sche Furfurolreaction an Empfindlichkeit übertreffen wird. Diese Vermuthung hat sich auch wirklich bestätigt.

Gibt man zu einem Tropfen einer 0,06 procentigen Traubenzuckerlösung zwei Tropfen einer 15 procentigen alko-

---

aus ganz herauszudestilliren, wie es bei der Schiff'schen Furfurolreaction geschehen muss. Bei Furfurolreactionen, wo man auch schon darum ein stärkeres Erhitzen der Flüssigkeit vermeiden muss, damit die Färbung nicht darunter leide — wie z. B. auch bei der $\alpha$-Naphthol-Reaction —, ist es auch vom Vortheil, nur geringe Mengen zu untersuchen. Man braucht nämlich dann um so weniger Schwefelsäure zuzusetzen, wodurch die Gefahr einer allzu starken Erwärmung der Flüssigkeit um ein Wesentliches herabgesetzt wird.

1) Schiff führt in seiner citirten Arbeit an, dass er mit Hülfe seiner Furfurolreaction noch 0,00005 gr. Zucker nachweisen konnte. Der geringe Unterschied in unseren Resultaten rührt vielleicht daher, dass Schiff mit trockner Substanz, ich aber mit einer Flüssigkeit die Bestimmung ausgeführt habe.

2) Vgl. diese Zeitschrift, dies. Band, S. 366.

holischen Lösung von α-Naphthol, so trübt sich zunächst die Flüssigkeit. Giesst man nun vorsichtig unter das Gemisch etwa $^1/_2$ cbcm. concentrirter Schwefelsäure in das Reagensrohr, so stellt sich über dem grünen Saum (hervorgerufen durch die Einwirkung der Mineralsäure auf das α-Naphthol) nach kurzer Zeit ein dunkelvioletter Farbenring ein. Vermischt man die Flüssigkeiten durch Umschüttelung (bei Abkühlung!) zu der Zeit, wo diese Farbenerscheinung eben zu bemerken ist, so resultirt eine carmoisinrothe Färbung, mit einem Stich in's Blaue. Es sind dann in der Flüssigkeit zugleich die, im I. Capitel dieser Mittheilungen beschriebenen Spectralerscheinungen wahrzunehmen. Die Reaction ist bei Anwendung eines Tropfens einer 0,05procentigen Traubenzuckerlösung schon etwas undeutlich. Nimmt man einen Tropfen einer 0,03procentigen Traubenzuckerlösung zur Reaction, so sind keine characteristischen Erscheinungen mehr zu bemerken. Die Menge des bei dieser Versuchsanordnung mit Hülfe der α-Naphthol-Reaction noch nachweisbaren Zuckers variirt sonach zwischen 0,000028 gr. und 0,000033 gr.

Nebenbei sei hier noch erwähnt, dass diese beiden Furfurolreactionen selbst für den Nachweis des Traubenzuckers alle bisher üblichen Methoden der Zuckerbestimmung an Empfindlichkeit übertreffen. Ich überzeugte mich durch wiederholte Untersuchungen, dass bei der grössten Vorsicht, und Anwendung von ganz frisch bereiteter Fehling'scher Lösung, es nie möglich war, durch die Trommer'sche Probe den Zucker (in reiner wässeriger Lösung) nachzuweisen, wenn dessen Menge unterhalb 0,00012 gr. bis 0,00014 gr. zu stehen kam. Die geringsten Mengen des mit der Trommer'schen Probe, mit der Schiff'schen Furfurolreaction und der Reaction mit α-Naphthol und Schwefelsäure, in reinen Lösungen noch nachweisbaren Zuckers verhalten sich also wie 0,00012 gr. : 0,00007 gr. : 0,000028 gr.

Die Differenz ist natürlich noch grösser, wenn es sich darum handelt, die Untersuchung im Harn auszuführen. Das im Harn gebildete Furfurol wird zwar zum Theil durch einige

Bestandtheile des Harns gebunden, und somit der Reaction entzogen. Diese Beeinträchtigung der Furfurolreactionen ist aber viel geringer, wie die Hindernisse, welche dem guten Gelingen einer Trommer'schen Probe im Harn entgegentreten.

Die meisten Kliniker werden wohl einen Harn für diabetisch erklären, wenn derselbe dauernd circa 0,5 % oder noch mehr Zucker enthält. Auf Grund der früheren Erfahrungen mit reinen Traubenzuckerlösungen habe ich zahlreiche Versuche mit normalen und diabetischen[1]) Harnen ausgeführt. Alle diese Versuche liessen die Anwendbarkeit der Methode und der Berechnung für den vorliegenden Zweck als sichere erkennen.

Gilt es also zu ermitteln, ob ein Harn mehr oder weniger als 0,5 % Zucker oder Kohlehydrat enthält, so ist in folgender Weise zu verfahren:

### a) Bei der Schiff'schen Furfurolreaction.

Man verdünnt den zu untersuchenden Harn, mit Wasser, auf das Vierfache seines Volums. Es wird dann ein Tropfen des verdünnten Harns mit etwa 1 cbcm. concentrirter Schwefelsäure im Reagensrohr erhitzt und in die Mündung dieses ein mit Xylidinacetat getränkter Papierstreifen eingeschoben. Erzeugen die ausströmenden Dämpfe eine kräftige Röthung des Reagenspapiers, so ist der Harn bezüglich seines Gehaltes an Kohlehydraten pathologisch, d. h. er ist im Stande, ebenso viel Furfurol zu liefern, wie eine Traubenzuckerlösung, welche wenigstens 0,5 procentig ist. Bleibt die Röthung der Papiere aus, so ist der Harn bezüglich seines Gehaltes an Kohlehydraten normal.

---

[1]) Es wurde der Zuckergehalt diabetischer Harne von mehreren Fällen durch Titrirung genau ermittelt. Die Harne wurden alsdann so weit verdünnt, dass ihr Zuckergehalt auf 0,5 % zu stehen kam. Mit so verdünnten Harnen wurden dann Controllversuche ausgeführt, und diese ergaben eine vollkommene Uebereinstimmung mit den Versuchen, zu welchen reine Traubenzuckerlösungen von 0,5 % verwendet wurden.

b) Bei der $\alpha$-Naphthol-Reaction.

Man verdünnt den zu untersuchenden Harn, mit Wasser, auf das Zehnfache seines Volums. Es wird dann ein Tropfen des verdünnten Harnes im Reagensrohr mit zwei Tropfen einer 15procentigen alkoholischen Lösung von $\alpha$-Naphthol versetzt. Man lässt nun etwa $^1/_2$ cbcm. concentrirter Schwefelsäure vorsichtig unter das Gemisch fliessen. Tritt an der Berührungsfläche der Flüssigkeiten über einem grünen Saum ein violetter Farbenring in der Flüssigkeit ein, so ist der Harn bezüglich seines Gehaltes an Kohlehydraten pathologisch, d. h. er ist im Stande, so viel Furfurol zu liefern, wie eine Traubenzuckerlösung, welche wenigstens 0,5procentig ist. Ist der violette Farbenring nicht zu beobachten, so kann man den Harn bezüglich seines Gehaltes an Kohlehydraten als normal betrachten[1]).

Einige Bemerkungen, die Anstellung der Reactionen betreffend, sollen hier noch angeführt werden.

Die Furfurolreactionen dürfen nur mit eiweissfreien oder solchen Harnen vorgenommen werden, welche nur Spuren von Eiweiss enthalten[2]). Unbedeutende Mengen von Eiweiss im Harn können vernachlässigt werden, weil bei der äusserst geringen Menge des Harns, welche ich zu den Reactionen verwende, die Störung durch das Eiweiss beinahe gleich Null wird. Erheblichere Mengen von Eiweiss stören aber die Beurtheilung der Reaction. Seegen[3]) hat schon gefunden, dass die Molisch'sche Zuckerreaction mit $\alpha$-Naphthol und Schwefelsäure auch von solchen Eiweisskörpern getheilt wird, gegen deren Reinheit nichts einzuwenden ist. Meine im folgenden

---

1) Molisch hat bei seiner «Zuckerreaction» mit $\alpha$-Naphthol im Harn gefärbte Ausscheidungen beschrieben, welche eintreten, wenn das Reactionsgemisch mit Wasser verdünnt wird. Nach meinen Erfahrungen ist diese Erscheinung bei der äusserst geringen Menge des Harns, welche ich zur Furfurolreaction mit $\alpha$-Naphthol benützte, gar nicht characteristisch.

2) Enthält der Harn mehr Eiweiss, so muss man ebenso verfahren, als wenn man einen eiweisshaltigen Harn zur polarimetrischen Bestimmung des Traubenzuckers vorbereiten will.

3) Centralbl. f. d. med. Wiss., XXIV. Jahrg., 1886, No. 44 u. 45.

Capitel dieser Mittheilungen zu beschreibenden Versuche geben eine einfache Erklärung der Beobachtung Seegen's.

Die Reagensröhrchen, welche zu den Reactionen gebraucht werden, müssen absolut rein sein. Schiff hat schon angegeben, dass wenn Papierfaserchen, kleine Baumwollfäden etc. im Reagensrohr bei der Reinigung desselben zurückbleiben, oder die Reagensröhrchen einige Zeit in einer staubigen Atmosphäre unbedeckt stehen bleiben, so können durch das Erhitzen des Rohrs allein aus dessen Verunreinigungen schon genügende Mengen von Furfurol entwickelt werden, damit ein an die Mündung gehaltenes Xylidinacetatpapier röthlich gefärbt erscheine.

Bei der Bereitung der Schiff'schen Reagenspapiere muss Sorge getragen werden, dass der Eisessig ganz frei von Furfurol sei. Nach V. Meyer's[1]) Mittheilungen ist der käufliche Eisessig nämlich oft mit Furfurol verunreinigt; diese Verunreinigung kann nach colorimetrischen Bestimmungen (mit Anilin) selbst 0,108 gr. pro Liter betragen.

Für die Empfindlichkeit und Haltbarkeit der Reagenspapiere ist es von Vortheil, wenn das Gemisch gleicher Volumina Xylidin und Eisessig, nur mit ganz wenig Alkohol versetzt, zur Tränkung der Papierstreifen dient. Die Reagenspapiere müssen an der Luft an einem nicht zu warmen Orte getrocknet werden. Die Papiere können erst dann zu den Reactionen verwendet werden, wenn sie bereits ganz trocken sind. Es ist fernerhin rathsam, die Papiere bei der Aufbewahrung vor Luft und Licht einigermassen zu schützen. Es hat sich aber gezeigt, dass solche Schiff'sche Reagenspapiere, die ich vor etwa drei Monaten anfertigte und welche seitdem in einem offenen Schälchen frei an der Luft standen, von ihrer Empfindlichkeit nur wenig einbüssten.

---

Ich will schliesslich noch besonders hervorheben, dass die von mir geschilderten Versuche einer quantitativen Bestimmung der Kohlehydrate im Harn keinen Anspruch auf

1) Berichte d. deutsch. chem. Ges., XI. Jahrg., S. 1870.

absolute Genauigkeit machen können. Sie werden insbesondere die bisher üblichen Methoden der quantitativen Bestimmung des Traubenzuckers in diabetischen Harnen nicht verdrängen. Sie werden aber — darüber liegen mir zahlreiche Erfahrungen vor — mit wesentlichem Nutzen zu verwenden sein da, wo es gilt, durch einen einfachen Versuch zu entscheiden, ob der Harn nur wenige Zehntel Procente, oder einen bedeutenden Gehalt an Kohlehydraten besitzt. Um es kurz zu sagen, sind also diese Reactionen besonders dazu geeignet, zu ermitteln, ob ein Harn bezüglich seines Kohlehydratgehaltes als ein normaler oder als ein pathologischer zu betrachten sei.

Endlich ist bei den beschriebenen Reactionen in Betracht zu ziehen, dass die Furfurolreactionen auf alle im Harn vorhandenen Kohlehydrate zu beziehen sind. Es ist vorauszusehen, dass das thierische Gummi die Furfurolreaction geben wird. Ich habe ferner festgestellt, dass die Glycuronsäure[1]) ebenso Furfurol liefert, wie die Kohlehydrate.

Ueber das Vorkommen dieser Substanzen im normalen Harn ist indessen mit Sicherheit nur das nachgewiesen, dass der Gehalt des Harns an thierischem Gummi ein sehr geringer ist. Dagegen ist es festgestellt, dass die pathologische Vermehrung der Kohlehydrate im Harn wesentlich nur auf einer Vermehrung des Traubenzuckers beruht. Aus diesem Grunde sind auch bei den früheren Controll- und Vergleichsbestimmungen die Furfurolreactionen stets auf Lösungen von reinem Traubenzucker bezogen worden.

---

### V. Ueber die Bildung von Furfurol aus Eiweiss.

Die Beziehung der Kohlehydrate zum Eiweiss, d. h. die Bildung von Kohlehydraten aus Eiweiss, ist bis jetzt nur auf physiologischem Wege nachgewiesen worden.

Claude Bernard[2]) konnte bei Versuchen an Thieren, welche andauernd mit Fleisch gefüttert worden sind, eine

---

[1]) Ich verdanke ein Specimen von Glycuronsäureanhydrid der Freundlichkeit des Herrn Dr. H. Thierfelder in Strassburg.

[2]) Cl. Bernard: Nouvelle fonction du foie. Paris 1853. Leçons de physiologie expérimentale. Paris 1855.

reichliche Zuckerbildung in der Leber constatiren. Gegen die Erklärung dieser Beobachtung Bernard's wurden verschiedene Einwendungen erhoben. Es wurde vorgehalten, dass diese reichliche Zuckerbildung in der Leber von dem Dextrin- resp. Glycogengehalte des Fleisches, welches zur Fütterung der Versuchsthiere diente, abhängig sein könnte. Für die Erklärung der Glycogenanhäufung in der Leber wurde dann auch die «Ersparnisstheorie» zur Hülfe genommen.

Es ist hier nicht am Platze, auf die reichhaltige Litteratur, welche sich mit diesem Gegenstande beschäftigt, sowie auf die Erörterung dessen, wie weit die gegen die Bernard-sche Beobachtung gemachten Einwendungen berechtigt sind, näher einzugehen. Es soll nur hervorgehoben werden, dass nach den Ergebnissen der neueren Forschung die Beobachtung Bernard's thatsächlich nicht anders gedeutet werden kann, als dass der thierische Organismus die Fähigkeit besitzt, aus Eiweisskörpern Kohlehydrate zu bilden.

Zunächst hat Seegen[1]) die Bernard'schen Versuche wiederholt, indem er Pepton anwendete. Er fand, dass bei Peptonfütterung der Thiere, oder nach Injectionen von Pepton, der Glycogengehalt der Leber steigt. Aus Versuchen mit der überlebenden Leber hat Seegen weiterhin geschlossen, dass im Organismus das Pepton hauptsächlich in der Leber zersetzt wird[2]), und dass der Leberzucker auch zu den Producten dieser Umwandlung gehört.

Thierfelder[3]) hat dann gezeigt, dass durch langes Hungern kohlehydratfrei gemachte Thiere nach Eingabe von Chloralhydrat oder tertiärem Amylalkohol gepaarte Glycuronsäuren produciren. Die Glycuronsäure kann in diesen Fällen nur aus dem Eiweissbestande der Thiere entstanden sein.

Der weitaus wichtigste Nachweis über die Fähigkeit des Organismus, aus Eiweiss Kohlehydrate zu bilden, wurde durch

---

1) Biolog. Centralblatt, II, No. 19, S. 593.

2) Dass die Leber im Stande ist, in's Blut gebrachtes Pepton zurückzuhalten, geht schon aus früheren Versuchen Plósz's und Gyergyai's (Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. IX, 1874, S. 325) hervor.

3) Diese Zeitschr., Bd. X, S. 163.

die Untersuchungen v. Mering's[1]) geliefert. v. Mering erkannte im Phloridzin ein Mittel, mit welchem man äusserst leicht und sicher vorübergehenden, hochgradigen Diabetes mellitus hervorrufen kann. Wurde kohlehydratfrei gemachten Hunden etwa 20 gr. Phloridzin dargereicht, so trat eine, auf ohngefähr 48 Stunden sich erstreckende Zuckerharnruhr ein. Aus den parallel mit den Zuckerbestimmungen ausgeführten Bestimmungen der Stickstoffausscheidung schliesst v. Mering, dass der stickstofffreie Theil des Eiweisses zum grösseren Theil, mindestens zu $^2/_3$, aus Kohlehydrat besteht; dieser Werth ist aber wahrscheinlich noch grösser, da wohl anzunehmen ist, dass durch das Phloridzin nicht alles Kohlehydrat, welches aus Eiweiss entstanden ist, vor Verbrennung geschützt, im Urin ausgeschieden wird.

Man hat in der neueren Zeit die Frage, ob Kohlehydrate aus dem Eiweiss direct, oder auf indirecte Weise gebildet werden, d. h. ob das Eiweissmolekül Kohlehydratreste enthält oder nicht, vielfach discutirt. Während v. Mering seine Versuche mit der ersteren Auffassung in Einklang bringt, hat sich Pflüger[2]) für die indirecte Bildung der Kohlehydrate aus Eiweiss ausgesprochen.

Der chemische Nachweis der Bildung von Kohlehydraten aus Eiweiss ausserhalb des Organismus ist bis jetzt noch nicht geglückt. Bei keiner Spaltung des Eiweisses hat man Kohlehydrate erhalten. Dass beim Kochen des Eiweisses mit Alkalien leicht oxydable Substanzen gebildet werden, daraus kann man wohl kaum — wie Krukenberg[3]) es thut — auf die Präexistenz von Kohlehydraten im Eiweissmolekül schliessen.

---

1) J. v. Mering, «Ueber exp. Diabetes.» «Ueber Diab. mellitus.» Separatabdrücke aus den Verhandlungen des V. und VI. Congresses für innere Medicin in Wiesbaden. 1886 u. 1887.

2) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XLII, S. 144.

3) S.-A. aus den Sitzungsberichten der Jenaischen Gesellschaft f. Medic. u. Naturwiss. 1885. Ref. in Maly's Jahresber. üb. d. Fortschr. d. Thierchemie. Bd. XV, S. 17.

Wehmer und Tollens[1]) verneinen die Präexistenz von Kohlehydraten im Eiweissmolekül auf Grund ihrer Versuche, welche zeigten, dass man beim Kochen der Eiweisskörper mit Salzsäure keine Lävulinsäure erhält, während alle echten Kohlehydrate bei dieser Behandlung Lävulinsäure liefern.

Es gelingt leicht, zu zeigen, dass beim Erhitzen des Eiweisses mit concentrirter Schwefelsäure Furfurol entsteht. Schon geringe Mengen käuflichen Peptons gaben eine sehr deutliche Reaction mit Xylidinacetat. Um aber jede Beimengung von Kohlehydraten bei den zu den Versuchen verwendeten Eiweisskörpern mit Sicherheit ausschliessen zu können, wurde frisch geschlagenes Fibrin vollständig gewaschen und nachher zu der Untersuchung benützt.

Es wurden 17 gr. lufttrocknen Fibrins mit 40 gr. concentrirter Schwefelsäure und 20 gr. Wasser in einem Kolben über freier Flamme erhitzt. Das Destillat in der Vorlage rief auf den Schiff'schen Reagenspapieren eine intensive Rothfärbung hervor. Ein Theil des Destillates, mit Natriumcarbonat neutralisirt und im Reagensrohr gekocht, gab Dämpfe ab, welche das Xylidinacetatpapier ebenfalls stark rötheten. Etwa 1 cbcm. des Destillates mit in Essigsäure gelöstem Phenylhydrazin versetzt, zeigte eine ölige Trübung, welche nach einigen Stunden einem schwachen krystallinischen Niederschlage Platz gab[2]). Von weiteren Furfurolreactionen wurden im Destillate ausgeführt: die mit $\alpha$-Naphthol, Cholsäure, Aethylenglycol, Codein und concentrirter Schwefelsäure. In allen diesen Portionen waren die characteristische Färbung, sowie auch die früher beschriebenen Spectralerscheinungen wahrzunehmen.

Auf einen weiteren Nachweis des Furfurols, mit Hülfe seiner Oxydation zu Brenzschleimsäure, musste wegen der geringen Menge des zu Gebote stehenden Materials verzichtet werden, um so mehr, da die leichte Zersetzlichkeit der brenz-

[1]) Ann. d. Chemie, Bd. CCXLIII, Heft 3, S. 314.

[2]) Vgl. E. Fischer, Ueber die Einwirkung des Phenylhydrazins auf Aldehyde und Ketone. Ber. d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. XVII.

schleimsauren Salze der Erkennung selbst grösserer Mengen von Furfurol auf diesem Wege bedeutende Schwierigkeiten entgegenbringt. Ebenso wurde eine quantitative Bestimmung des gebildeten Furfurols nicht vorgenommen. Es ist sehr wahrscheinlich, dass das Furfurol bei diesem Vorgange nur zum Theil in das Destillat übergeht, sonst aber zur Bildung verschiedener gefärbter Verbindungen zurückgehalten wird. Andererseits könnte man aus dem gebildeten Furfurol nur dann auf die Menge des Kohlehydrats Schlüsse ziehen, wenn man wüsste, welcher Natur dieses sei.

Ausser dem Fibrin wurde noch aus Erbsenkörnern dargestelltes Globulin bezüglich seines Verhaltens beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure untersucht. Die Darstellung und Reinigung des Globulins geschah durch oft wiederholtes Lösen desselben in Salzlösung und Fällung aus letzterer mit Wasser, so dass jede Spur einer Beimengung von Kohlehydraten vollkommen auszuschliessen war. Die Bildung des Furfurols wurde hier genau eben so wie bei dem Fibrin bei der Einwirkung starker Schwefelsäure constatirt.

Hiermit ist festgestellt, dass kohlehydratfreie, reinste Eiweisssubstanzen bei der Einwirkung starker Säure Furfurol liefern. Ich habe auch verschiedene andere Eiweisskörper: Albumine, Pepton, Propepton, Casein — untersucht, und stets reichliche Furfurolbildung constatirt. Da es aber mit besonderen Schwierigkeiten verknüpft ist, die letztgenannten Eiweisskörper frei von den geringsten Spuren von Kohlehydraten zu erhalten, möchte ich nur die beiden erstgenannten Versuche als absolut beweisend für die Bildung von Furfurol aus Eiweiss bezeichnen.

Durch die geschilderten Versuche ist eine Reaction, welche den Eiweisskörpern und den Kohlehydraten gemeinsam ist, mit Sicherheit erwiesen. Die Bildung des Furfurols aus den Eiweisskörpern zeigt zum ersten Male auf chemischem Wege nahe Beziehungen zwischen Kohlehydraten und Eiweisskörpern an.

Dass der Nachweis solcher Beziehungen durch das physiologische Experiment als vollständig erbracht anzusehen ist

(besonders durch die Versuche v. Mering's), ist schon früher erörtert worden. Der Nachweis dieser Beziehungen würde natürlich an Bedeutung wesentlich verlieren, wenn es gelänge, die Furfurolbildung — caeteris paribus — auch bei solchen Substanzen zu erzielen, welche mit den Kohlehydraten thatsächlich in keiner Beziehung stehen. Ich selbst habe viele Experimente in dieser Beziehung gemacht, — sämmtlich mit negativem Erfolg. Hierbei sind besonders zu erwähnen die Versuche mit den verschiedenen Amidosäuren, welche bei der Eiweisszersetzung gebildet werden. Diese lieferten kein Furfurol.

Noch interessanter in dieser Beziehung dürfte die Thatsache sein, dass auch der reinste Leim keine Furfurolreaction gibt, zumal der Leim — wie es schon Cl. Bernard gezeigt hat — zu der grossen Zahl der Substanzen gehört, welche, in den Organismus eingeführt, eine Steigerung der Glycogenbildung in der Leber bedingen können. Dieser Umstand könnte darauf hinweisen, dass die Glycogenvermehrung nach Leimfütterung im Sinne der Ersparnisstheorie aufzufassen sei. Weitere Versuche, insbesondere unter Anwendung der Erzeugung von künstlichem Diabetes mellitus mit Hülfe des v. Mering'schen Experimentes, werden hierüber eine bestimmtere Entscheidung bringen können.

Die Bildung von Furfurol aus den Eiweisskörpern erklärt auch die von Seegen[1]) als Einwendung gegen die Einschlägigkeit der Molisch'schen Zuckerreaction mit α-Naphthol und concentrirter Schwefelsäure erbrachte Beobachtung, dass absolut reine Eiweisskörper diese Zuckerreactionen ebenfalls theilen. Ohne Frage beruht diese Erscheinung auf der Bildung von Furfurol, welches dann mit α-Naphthol und Schwefelsäure die beschriebene Violettfärbung bedingt. Es ist jetzt aber ebenso leicht verständlich, warum der Harn eiweissfrei sein soll, wenn man in ihm eine Furfurolreaction zur Bestimmung der Kohlehydrate ausführen will.

Der Nachweis der Furfurolabspaltung aus den Eiweisskörpern unter dem Einflusse von Säuren ergibt endlich auch

---

1) Centralblatt f. d. med. Wiss., XXIV. Jahrg., 1886, No. 45, S. 802.

eine einfache Erklärung der schon seit langer Zeit bekannten Farbenerscheinungen, welche bei der Behandlung von Eiweiss mit Säuren hervorgerufen werden können. Hieher gehört die Blau- bis Violettfärbung, welche mit concentrirter Salzsäure bei den meisten Eiweisskörpern vorübergehend hervorgerufen werden kann[1], ferner die von Adamkiewicz[2]) beschriebenen Farbenreactionen des Eiweiss, welche mit Essigsäure und Schwefelsäure erzeugt werden.

Gelänge es nachzuweisen, dass das Furfurol auch innerhalb des Organismus abgespalten wird, so wäre damit wahrscheinlich der Schlüssel gegeben für ein Verständniss der Bildung zahlloser Farbstoffe im Pflanzen- und Thierreiche. Es würde dann die von A. Baeyer[3]) schon vor Jahren vermuthete Beziehung des Chlorophyllfarbstoffes zu gewissen Verbindungen des Furfurols mit Phenolen eine thatsächliche Begründung gewinnen können.

---

Zum Schlusse erfülle ich eine angenehme Pflicht, indem ich Herrn Prof. Baumann für die freundliche Unterstützung bei diesen Untersuchungen meinen verbindlichsten Dank abstatte.

---

1) Vgl. u. A. L. Liebermann, Centralblatt f. d. med. Wiss., XXV. Jahrg., 1887, No. 18.

2) Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. IX, S. 157.

3) Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. V, S. 26.

# Histochemische Beobachtungen über die hyaline Grundsubstanz des Trachealknorpels.

Von

**Carl Th. Mörner** (in Upsala).

(Der Redaction zugegangen am 20. März 1888.)

Bezüglich der chemischen Natur der Knorpelgrundsubstanz haben verschiedene Ansichten einander ziemlich rasch abgelöst. Der älteren Auffassung gemäss sollte die Grundsubstanz aus einer in chemischer Hinsicht selbstständigen Substanz bestehen, die man wegen ihrer Fähigkeit, bei Erhitzung mit Wasser in eine lösliche Modification — Chondrin — überzugehen, Chondrogen nannte. Den hierbei stattfindenden Process betrachtete man als ein Analogon der Umwandlung des Collagens in Glutin bei einer ähnlichen Behandlung. Aus mehreren neueren Untersuchungen geht es indessen hervor, dass die Grundsubstanz des Knorpels keine einheitliche Verbindung darstellt, sondern vielmehr aus einem Gemenge zweier verschiedenen Stoffe gebildet wird. Morochowetz[1]), Krukenberg[2]) und Landwehr[3]) haben übereinstimmend das Collagen als die eine dieser zwei Componenten aufgeführt und überzeugende Beweise hierfür geliefert. Hinsichtlich der zweiten Substanz sind dagegen die Arbeiten dieser Forscher weniger eingehend gewesen und die Versuchsergebnisse gehen auch ziemlich aus einander. In der besonderen Absicht, diesen zweiten, bis jetzt wenig stu-

1) Verhandlungen des Naturhist.-Med. Vereins zu Heidelberg, I. Bd., 5. Heft.

2) Sitzungsberichte der Würzburger physik.-med. Gesellschaft, 1884.

3) Archiv f. d. ges. Phys., Bd. XXXIX.

dirten Bestandtheil der Knorpelgrundsubstanz kennen zu lernen, habe ich auf Initiative von Professor Hammarsten den Trachealknorpel zum Gegenstand einer Untersuchung gemacht. Obgleich diese letztere noch nicht abgeschlossen ist, möchte es mir doch gestattet sein, schon jetzt einen kleineren Theil davon zu veröffentlichen, da dieser Theil, welcher eben so viel das histologische wie das chemische Gebiet berührt, eine mehr selbstständige Stellung einnimmt.

Ich habe nicht nur bestätigen können, dass der fragliche Knorpel aus mindestens zwei verschiedenen Substanzen besteht, sondern ich habe auch gefunden, dass diese Stoffe kein gleichmässiges Gemenge darstellen, sondern morphologisch verschiedene Theile der Grundsubstanz einnehmen. Zu dieser Beobachtung wurde ich auf folgende Weise geführt.

Von der wohlbekannten Thatsache ausgehend, dass Substanzen verschiedener chemischer Natur ein differentes Verhalten Farbestoffen gegenüber darzubieten pflegen, habe ich es vorgenommen, das Verhalten microscopischer Knorpelschnitte gegen mehrere Farbestoffe zu prüfen. Von den geprüften Farbestoffen giebt es nun einige wenige, welche ein ganz besonders interessantes Verhalten dem Trachealknorpel gegenüber gezeigt haben, und diese Farbstoffe sind: Indigoblau, Tropäolin, Methylviolett und Anilinroth; ferner Eisenchlorid mit gelbem Blutlaugensalz. Werden dünne Knorpelschnitte in passend zubereitete Lösungen dieser Stoffe eingetragen und dann weiter (siehe unten) behandelt, so bietet die Grundsubstanz bei microscopischer Betrachtung nicht eine gleichmässige Färbung dar. Bald sind nämlich diejenigen Partien, welche die Zellengruppen einschliessen, gefärbt und die übrige Substanz farblos (Methylviolett, Anilinroth, Eisenchlorid mit gelbem Blutlaugensalz), bald wiederum sind die Umgebungen der Zellengruppen farblos, die übrige Grundsubstanz dagegen gefärbt (Indigoblau, Tropäolin). Combinirt man die Wirkung zweier Farbestoffe, so können die beiden Partien der Knorpelsubstanz, eine jede mit ihrer besonderen Farbe, sichtlich gemacht werden. Es treten an solchen Präparaten nicht nur die verschieden gefärbten Partien im Ganzen

deutlich hervor, sondern es sind auch die Grenzlinien zwischen ihnen scharf markirt. Um ein besseres Verständniss von der Vertheilung dieser zwei, morphologisch wie chemisch zu unterscheidenden Hauptbestandtheile der Grundsubstanz, wie auch von ihrer Form und Natur zu ermöglichen, will ich hier zuerst dasjenige, was man an einem, mit Tropäolin und Methylviolett doppelgefärbten, in Canadabalsam aufbewahrten Schnitte eines Trachealknorpels beobachten kann, mittheilen.

Mit unbewaffnetem Auge wird man Folgendes gewahr. Das Perichondrium, wenn es im Schnitte mit vorkommt, erscheint als ein stark gelbgefärbter Saum; dieselbe Farbe besitzt auch eine schmale, innerhalb des Perichondrium befindliche Zone, welche von der äussersten Schicht des Knorpelgewebes gebildet wird und vom Perichondrium einstrahlende Bindegewebefibrillen oft enthält. Endlich bemerkt man auch gewöhnlich im centralen Theile des Schnittes einen oder mehrere gelbgefärbte Flecke, Querschnitte hohler, gefässähnlicher Bindegewebestränge, die im Knorpelgewebe spärlich vorkommen und sämmtliche an der convexen (äusseren) Fläche des Trachealringes ausmünden. Sonst scheint die Grundsubstanz eine gleichmässig roth-violette Farbe zu besitzen. Hält man das Präparat gegen das Licht, so wird man doch ein eigenthümliches Schillern gewahr, welches schon die erst bei microscopischer Untersuchung deutlich hervortretende, heterogene Färbung ahnen lässt.

Bei Untersuchung mit dem Microscope — und dabei ist keine stärkere Vergrösserung nöthig, Objectiv No. 2 oder No. 3 Hartnack's sind hinreichend — sieht man die Grundsubstanz aus einem gelbgefärbten Balkennetze, in welchem mehrere, die Maschen desselben ausfüllende, blaugefärbte Felder zu sehen sind, bestehen.

Das gelbgefärbte Balkennetz steht mit den drei oben genannten Partien gelber Farbe, nämlich dem Perichondrium, der peripheren Zone des Knorpelringes und den Querschnitten der gefässähnlichen Bindegewebestränge in continuirlicher Verbindung. Das Balkennetz berührt nirgends die

Knorpelzellen und in seinen Balken ist keine einzige Zelle wahrzunehmen. Die letzteren sind ausschliesslich zu den, die Maschen ausfüllenden Feldern verweist. Schon aus dem Umstande, dass das Balkennetz der Grundsubstanz mit jenen Bildungen, welche aus Collagen factisch bestehen, dieselbe Farbe gemeinsam hat und in sie continuirlich übergeht, muss man geneigt sein, das Balkennetz auch für eine collagene Bildung zu halten. Diese nahe zur Hand liegende Vermuthung wird auch durch die chemische Analyse bestätigt. Vermittelst einer unten zu beschreibenden Methode ist es mir nämlich gelungen, das Balkennetz isolirt darzustellen; und die durch Erhitzen eines solchen Präparates im Papin'schen Topfe erhaltene Lösung giebt alle Reactionen des Glutins, während sie von keinem der eine gewöhnliche Knorpelleimlösung (s. g. Chondrinlösung) fällenden Reagentien die geringste Fällung oder Trübung erfährt. Das Balkennetz besteht also aus demjenigen Collagen, dessen Anwesenheit im Knorpel M. Schultze[1]), Morochowetz, Krukenberg und Landwehr gezeigt haben.

Die blaugefärbten, die Maschen des Balkennetzes ausfüllenden Felder stellen die optischen Querschnitte rundlicher Bildungen dar, welche in ihrer einfachsten Gestalt kugelig oder eiförmig sind[2]). Wenn aber, was oft der Fall ist, eine grössere oder kleinere Anzahl dieser Bildungen mit einander zusammenhängen, entstehen hieraus complicirtere, sehr unregelmässige Formen, in deren Contouren seichte Einschnürungen die Grenzen der einzelnen Chondrinballen andeuten. Die einfachste Form der Chondrinballen

---

1) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 71, S. 275.

2) Der Kürze wegen werden sie im Folgenden «Chondrinballen» genannt. Sie stimmen im Allgemeinen mit den s. g. «Knorpelkapseln» überein, haben jedoch sowohl peripherisch als central einen grösseren Umfang, als die entsprechenden Knorpelkapseln. Ein Chondrinball streckt sich nämlich in peripherer Richtung ein wenig weiter, als die entsprechende Knorpelkapsel es angiebt; im centralen Theile schliesst er auch die Brücken oder Bälkchen, welche die einzelnen Zellen der innerhalb einer Knorpelkapsel befindlichen Zellgruppe von einander trennen, in sich ein.

beträgt bis etwa 0,1 mm. im Diameter. In den Chondrinballen haben die Knorpelzellen ausschliesslich ihren Sitz; jeder einfache Chondrinball beherbergt eine Zellengruppe; die complicirteren Formen schliessen stets mehrere Zellengruppen ein. Dass die Substanz dieser Chondrinballen von derjenigen des Balkennetzes (Collagen) chemisch verschieden sein muss, geht einerseits aus ihrem, Farbestoffen gegenüber sehr differenten Verhalten und anderseits noch deutlicher aus mehreren bei der chemischen Untersuchung gefundenen Thatsachen hervor. Da es nicht meine Absicht ist, in dieser kurzen Mittheilung auf chemische Details einzugehen, will ich nur vorläufig erwähnen, dass ich die Chondrinballen aus mindestens zwei, nicht nur vom Collagen verschiedenen, sondern auch unter einander differenten Substanzen bestehend gefunden habe. Nur ein einziges Experiment will ich zum Beweis der verschiedenen chemischen Natur des Balkennetzes und der Chondrinballen hier anführen, während ich die nähere Erklärung desselben erst in einer späteren Mittheilung im Zusammenhange mit dem chemischen Verhalten des Knorpels im Uebrigen besprechen werde. Werden äusserst dünne Schnitte des Trachealknorpels mit 0,1—0,2 % Chlorwasserstoffsäure während etwa zwei Wochen bei 40° C. digerirt, so ist weder mit unbewaffnetem Auge, noch bei microscopischer Untersuchung irgend welche Veränderung zu sehen, mit Ausnahme davon, dass die Durchsichtigkeit ein wenig vermindert worden ist. Nach dem Auswaschen der Säure mit Wasser trägt man die Schnitte in schwache Kalilauge (0,1 % Kalihydrat) hinein; man bemerkt dann, wie schon nach kurzer Einwirkung der Lauge sämmtliche Chondrinballen vollständig ausgelöst worden sind, so dass nur leere Höhlen von der Form der Chondrinballen ihren früheren Platz anzeigen. Die Knorpelschnitte, welche ihre äussere Form anscheinend bewahrt haben, bestehen nunmehr nur aus dem Balkennetz (Collagen), wovon man sich leicht durch microscopische Untersuchung überzeugen kann. In der alkalischen Lösung der Chondrinballen erzeugen Säuren flockige Niederschläge, und die neutralisirte Lösung wird auch von mehreren Metallsalzen flockig gefällt;

diese Niederschläge bestehen aus den durch Digestion mit Chlorwasserstoffsäure veränderten und theilweise zersetzten Substanzen der Chondrinballen. Auch die Knorpelzellen findet man in der alkalischen Flüssigkeit frei herumschwimmend, da sie bei Auflösung der Chondrinballen ihre Lagerstätten verloren haben und so in Freiheit versetzt worden sind. Zu den Chondrinballen ist natürlich die zweite Substanz der Autoren (Mucin nach Morochowetz und v. Mering[1]); Hyalogen nach Krukenberg) zu verlegen. Nach dem nun Mitgetheilten will ich die zum Nachweis der histochemischen Struktur der Knorpelgrundsubstanz verwendeten Färbungsmethoden besprechen.

1. Färbung des Balkennetzes.

a) Die Knorpelschnitte werden in eine concentrirte Tropäolinlösung[2]) von 2—3 % (Tropäolin 000 No. 2 von Schuchardt) eingetragen. Nach $^1/_2$—2 Stunden werden sie in Wasser ausgewaschen, bis das Balkennetz allein mit orangegelber Farbe hervortritt.

b) Zur Färbung wird eine concentrirte (4—5 %) Lösung von einem Indigoextracte (von Gehe & Cie. erhalten, aus indigoschwefelsaurem Kali bestehend) verwendet. Einwirkungsdauer nur einige Minuten, übrigens wie a). Balkennetz blau.

2. Färbung der Chondrinballen.

a) Die Schnitte lässt man während $^1/_2$—2 Minuten in einer Methylviolettlösung (0,15 %) liegen. Nach Abspülung mit Wasser lässt man sie in Essigsäure (10 %) verweilen, bis das zuerst auch gefärbte Balkennetz vollständig entfärbt wird. Die Chondrinballen blau.

b) Farbeflüssigkeit: eine Lösung von Anilinroth (0,15 %). Behandlung dieselbe wie bei a). Die Chondrinballen roth.

c) Die Schnitte werden erst in eine schwache Eisenchloridlösung eingetaucht, dann nach sorgfältigem Auswaschen mit Wasser in eine sehr verdünnte Lösung von gelbem Blut-

1) Academ. Dissertation. Strassburg.

2) Alle Farbstoffe werden als reine Wasserlösungen verwendet.

laugensalz eingetragen, wobei ausschliesslich die Chondrinballen von ausgefälltem Berlinerblau gefärbt werden. Diese Färbung rührt daher, dass die Bestandtheile der Chondrinballen mit dem Eisenchlorid in Wasser unlösliche Verbindungen eingehen und das Eisensalz also zurückhalten. Das Collagen des Balkennetzes verhält sich dagegen diesem Reagense gegenüber ganz indifferent und durch Auswaschen mit Wasser kann es also von dem Eisenchlorid leicht befreit werden.

3. Doppelfärbung.

a) Die Schnitte werden erst nach 1a) behandelt. Nach Auswaschen mit Wasser werden sie einige Secunden in Methylviolettlösung (0,15 %) und dann in Essigsäure (10 %) einige Minuten eingetaucht. Darauf folgt rasche Entwässerung mit Alkohol und Aufklärung der Schnitte in Nelkenöl. Balkennetz gelb, Chondrinballen blau.

b) Man behandelt die Schnitte erst nach 1b), dann nach 3a), doch mit dem Unterschied, dass statt einer Methylviolettlösung eine solche von Anilinroth (0,15 %) angewendet wird. Balkennetz blau, Chondrinballen roth.

Beabsichtigt man die Präparate aufzubewahren, werden sie wie gewöhnlich nach Behandlung mit Alkohol und Nelkenöl in Canadabalsam eingelegt. Doppelgefärbte Schnitte soll man immer einer solchen Behandlung unterwerfen, weil die Bilder dann deutlicher hervortreten.

Ueber die histochemische Natur eines Gewebes pflegt ausser der Färbungsmethode auch die, auf der grösseren oder geringeren Resistenz verschiedener Substanzen gegen chemische Agentien begründete Macerationsmethode Aufschlüsse zu geben. Einige in dieser Richtung am Trachealknorpel angestellte Versuche bestätigen auch in vollem Masse die nach der ersteren Methode gefundenen Thatsachen. Durch abwechselndes kurzes Eintauchen dünner Knorpelschnitte in concentrirte Chromsäurelösung (1 Th. Chromsäure + 3 Th. Wasser) und Abspülen mit Wasser kann man Präparate erhalten, die sich unter dem Microscope als nur aus dem Balkennetze bestehend

erweisen, indem die Chondrinballen, nebst den in ihnen eingeschlossenen Zellen entfernt, d. i. ausgelöst worden sind. Einer zweiten Methode, welche die Darstellung ähnlicher Präparate gestattet, habe ich schon oben Erwähnung gethan.

Wie es aus der Ueberschrift dieser Abhandlung hervorgeht, ist der Trachealknorpel, und zwar aus erwachsenen Rindern, das nächste Object dieser Untersuchungen gewesen. Darum ist auch das hier besprochene Verhalten in erster Hand auf diese Knorpelart zu beziehen, aber selbst für den Trachealknorpel vom Rind ist es nicht unter allen Umständen gültig. Im Trachealknorpel sehr junger Rinder kann man nämlich mittelst der angegebenen Färbungs- oder Macerationsmethoden von jener histochemischen Struktur nichts entdecken. Die oben besprochene Differenzirung entwickelt sich nämlich erst allmählich während des Erwachsens der Thiere, was ich an einer Reihe von Schnitten, welche neun Rindern verschiedenen Alters entstammen, gefunden habe. Sämmtliche Schnitte wurden nach 3, 1 (mit Tropäolin und Methylviolett) behandelt; aus der microscopischen Untersuchung ergab sich Folgendes:

Präp. No. 1—2, von zwei Kälbern, welche noch nicht eine Woche alt waren. Eine besondere Gruppirung der Knorpelzellen ist nicht merkbar; die Grundsubstanz ist gleichmässig blaugefärbt.

Präp. No. 3—6, von Kälbern verschiedenen Alters (einige Wochen bis einige Monate). Die Zellen zeigen mit steigendem Alter der Thiere allmählich mehr abgegrenzte Gruppen; an den Stellen, welche solchen Zellengruppen entsprechen, nimmt die blaugefärbte Grundsubstanz eine stärkere blaue Färbung an (Andeutung der Chondrinballen), während die dazwischen liegenden Theile schwächer gefärbt sind, aber noch keine gelbe Farbe zeigen (Andeutung des Balkennetzes).

Präp. No. 7, von einer sogenannten Färse. Eine distincte Differenzirung zwischen blaugefärbten Chondrinballen und einem gelbgefärbten Balkennetze ist deutlich vorhanden, die ersteren haben nur nicht ihre volle Grösse erreicht.

Präp. No. 8—9, von erwachsenen Rindern. Wie Präp. No. 7; die Chondrinballen sind gross und zeigen häufig eine complicirte Form.

Ueber die Ursache dieser Verschiedenheit zwischen dem jungen und dem ausgebildeten Knorpel hoffe ich in einer späteren Mittheilung Auskunft geben zu können.

Was den Knorpel anderer Organe und anderer Thierarten betrifft, so hat es mir an Zeit gefehlt, eingehendere Observationen hierüber anzustellen. Nur ganz beiläufig habe ich einige wenige Knorpelarten anderen Ursprunges geprüft und dabei beobachtet, dass einige, z. B. der Thyroideal-, Cricoideal- und Arythnoidealknorpel erwachsener Rinder ein ähnliches Verhalten wie der Trachealknorpel zeigen, während andere dagegen, wie der Knorpel der Nasenflügel vom Rind, der Gelenkknorpel vom Froschschenkel, von einer ähnlichen Struktur nichts erkennen lassen. Mit den obigen Farbstoffen nehmen sie nämlich, auch bei geeigneter Nachbehandlung, nur eine annähernd gleichmässige Färbung an.

Morochowetz, Krukenberg, Landwehr und v. Mering haben schon durch ihre Untersuchungen Beweise dafür geliefert, dass die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels in chemischer Hinsicht nicht aus einer einzigen organischen Substanz, sondern aus einem Gemenge verschiedenartiger Substanzen besteht. Dass aber diese von einander räumlich gesondert in der Grundsubstanz liegen und morphologisch verschiedenartige Theile derselben darstellen können, darüber finden sich, meines Wissens, in der Litteratur keine Angaben. Vielmehr scheint es, als hätte man die Grundsubstanz nur als ein inniges Gemenge der in ihr gefundenen Substanzen sich gedacht.

Die Resultate meiner chemischen Untersuchungen über die verschiedenen Bestandtheile der Trachealknorpelgrundsubstanz werde ich hoffentlich binnen Kurzem in einem zweiten Aufsatze mittheilen können.

# Ueber einige stickstoffhaltige Bestandtheile der Keimlinge von Soja hispida.

Von

**E. Schulze.**

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 28. März 1888.)

Die nachfolgende kleine Arbeit schliesst sich den Untersuchungen über die stickstoffhaltigen Bestandtheile der Lupinen- und Kürbiskeimlinge an, welche von mir und meinen Mitarbeitern ausgeführt worden sind. Aus diesen Untersuchungen hat sich ergeben, dass zwischen den genannten Keimlingen in Bezug auf den Gehalt an denjenigen Stickstoffverbindungen, welche man als Producte der regressiven Stoffmetamorphose betrachten kann, gewisse Unterschiede sich finden. Die etiolirten Keimlinge von Lupinus luteus enthalten neben einer ausserordentlich grossen Asparagin-Menge Amidovaleriansäure[1]) und Phenylamidopropionsäure (und zwar eine optisch active Modification der Phenyl-$\alpha$-amidopropionsäure)[2]), ferner Arginin (eine stickstoffreiche Base)[3]), Cholin[4]), sowie Körper der Hypoxanthin- und Xanthin-Gruppen[5]); Leucin

[1]) Journal f. pract. Chemie, N. F., Bd 27, S. 337.

[2]) Ebendaselbst; ferner diese Zeitschrift, Bd, 11, S. 201.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 43.

[4]) Diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 365.

[5]) Ich habe diese Stoffe nach dem Vorgang Anderer früher gewöhnlich unter dem Namen «Xanthin-Körper» zusammengefasst; da jedoch nach dem chemischen Verhalten einerseits Hypoxanthin und Adenin, andererseits Xanthin und Guanin zusammengehören (m. vgl. die Abhandlungen Kossel's), so ist es wohl richtiger, von einer Hypoxanthin- und einer Xanthin-Gruppe zu sprechen. Diese Körper wurden zuerst durch G. Salomon (Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft in Berlin, 1880/81, No. 2 und 3), später auch von J. Barbieri und mir in den Lupinenkeimlingen nachgewiesen.

und Tyrosin sind wahrscheinlich in geringer Menge vorhanden, konnten aber bis jetzt nicht mit aller Sicherheit nachgewiesen werden. Die etiolirten Kürbiskeimlinge enthalten dagegen neben einer geringen Asparaginmenge ziemlich viel Glutamin, ferner Leucin, Tyrosin, Arginin, Cholin, Vernin, sowie Körper der Hypoxanthin- und Xanthin-Gruppen.[1]). Von den in den Kürbiskeimlingen aufgefundenen Stoffen fehlen also zwei, nämlich Glutamin und Vernin, dem Anschein nach in den Lupinenkeimlingen; zwei andere, nämlich Leucin und Tyrosin, sind in letzteren noch nicht ganz bestimmt nachgewiesen und finden sich darin, falls sie vorhanden sind, zweifellos in viel geringerer Menge vor, als in den Kürbiskeimlingen. Andererseits sind zwei Bestandtheile der Lupinenkeimlinge, nämlich Amidovaleriansäure und Phenylamidopropionsäure, aus den Kürbiskeimlingen noch nicht isolirt worden[2]).

Ausser den genannten Keimlingen sind bekanntlich auch die Wickenkeimlinge genauer auf ihre stickstoffhaltigen Bestandtheile untersucht worden, und zwar durch v. Gorup-Besanez[3]). Derselbe fand darin neben Asparagin eine nicht unbeträchtliche Quantität Leucin; auch Glutamin und eine

---

[1]) Journal f. pract. Chemie, N. F., Bd. 32, S. 433. Angaben über das Vorkommen von Arginin und Cholin in den Kürbiskeimlingen finden sich in dieser Zeitschrift, Bd. 11, S. 43 und 365.

[2]) Es sei an dieser Stelle noch ein Versuchsergebniss erwähnt, welches für die Beurtheilung des Werthes der bei unseren Untersuchungen erhaltenen Resultate wohl nicht unwesentlich ist. Um zu prüfen, ob nicht vielleicht einige der in den Keimlingen von uns aufgefundenen stickstoffhaltigen Stoffe Producte von secundären, nach dem Aufhören der Lebensvorgänge in den untersuchten Keimlingen stattgefundenen Zersetzungsprocessen seien, habe ich noch 14—15tägige Lupinenkeimlinge untersucht, welche frisch in absoluten Alkohol geworfen und nach monatelangem Verweilen unter letzterem über Schwefelsäure getrocknet worden waren. Auch in den so behandelten Keimlingen fand ich neben Asparagin Amidosäuren (Phenylamidopropionsäure, Amidovaleriansäure), Arginin und Cholin. Das Nähere über diesen Versuch soll später noch an anderer Stelle mitgetheilt werden.

[3]) Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 7, S. 146 und 569, Bd. 10, S. 780.

höchst geringe Tyrosin-Menge sind sehr wahrscheinlich vorhanden. Ferner sei erwähnt, dass nach Clifford Richardson und C. A. Crampton[1]) in den Weizenkeimlingen Allantoin sich findet — eine Substanz, welche ich weder in Lupinen- noch in Kürbiskeimlingen nachzuweisen vermochte.

Da zwischen den bis jetzt untersuchten Keimpflanzen in Bezug auf die stickstoffhaltigen Bestandtheile Unterschiede sich gezeigt haben, so darf man sich nicht auf die Untersuchung weniger Arten von Keimpflanzen beschränken, wenn man alle während des Keimungsvorgangs auftretenden stickstoffhaltigen Producte der regressiven Stoffmetamorphose kennen lernen will. Es erschien mir daher wünschenswerth, diejenigen Methoden, welche bei Untersuchung der Lupinen- und Kürbiskeimlinge gute Resultate gegeben hatten, noch auf eine dritte Sorte von Keimlingen anzuwenden. Ich wählte dazu die Keimlinge der stickstoffreichen chinesischen Oelbohne (Soja hispida). Dieselben wurden in grossen, mit Flusssand gefüllten Kästen bei sehr schwachem Lichtzutritt (in einem verdunkelten Zimmer) gezogen und nach 2—3-wöchentlicher Vegetationsdauer geerntet; vor der Untersuchung wurden sie getrocknet[2]).

Wie in den etiolirten Keimlingen von Lupinus luteus, so findet sich auch in denjenigen der Soja hispida Asparagin in sehr grosser Menge vor. Dasselbe lässt sich leicht gewinnen, indem man die getrockneten Keimlinge mit heissem Wasser extrahirt und die Extracte bis zum Syrup eindunstet; aus letzterem beginnen bald Asparaginkrystalle sich auszuscheiden. Nach ein- bis zweimaligem Umkrystalliren aus Wasser sind dieselben vollkommen farblos und rein. Eine Analyse führte zu folgendem Ergebniss:

| | Gefunden: | Die Formel $C^4H^8N^2O^3 + H^2O$ verlangt: |
|---|---|---|
| Krystallwasser . . . | 11,94 | 12,00 % |
| Stickstoff . . . . . | 18,57 | 18,67 » |

[1]) Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 19, S. 1180.

[2]) Einige der bei Untersuchung dieser Keimlinge erhaltenen Resultate sind von mir schon früher in den Landwirthschaftl. Jahrbüchern, Bd. 9, S. 689, erwähnt worden.

Die Keimlinge lieferten 7—8 % Asparagin (berechnet auf die Keimpflanzen-Trockensubstanz).

Neben Asparagin finden sich in geringer Menge stickstoffhaltige Stoffe vor, welche den in den Lupinenkeimlingen enthaltenen Amidosäuren ähnlich sind. Zur Gewinnung derselben wurden die getrockneten Keimlinge in der Wärme mit Weingeist von ca. 90 Vol.-Procent extrahirt, die Extracte eingedunstet, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, die trübe Lösung mit Bleiessig versetzt, die vom Bleiniederschlag abfiltrirte Flüssigkeit mittelst Schwefelwasserstoff vom Blei befreit und sodann im Wasserbade bis zum Syrup eingedunstet. Nach einiger Zeit schied sich neben einigen Asparaginkrystallen eine im Aeussern dem ganz unreinen Leucin gleichende Substanz in Häuten und kugeligen Aggregaten aus. Die Ausscheidung wurde durch Abfiltriren auf einem Leinwandfilter und darauf folgendes Abpressen zwischen Fliesspapier von der Mutterlauge möglichst befreit, dann in ammoniakhaltigem Weingeist gelöst (wobei Asparagin zurückblieb); das beim Verdunsten dieser Lösung sich Ausscheidende wurde dann noch ein- oder zweimal aus dem eben genannten Lösungsmittel umkrystallisirt. Die so gewonnene Substanz bildete eine weisse, im Aussehen dem Leucin ähnliche Masse; beim Erhitzen im Proberohr lieferte sie ein weisses Sublimat, was das Vorhandensein von Leucin oder Amidovaleriansäure wahrscheinlich macht. Daneben aber fand sich allem Anschein nach Phenylamidopropionsäure vor. Als nämlich das im Vorigen beschriebene Substanzgemenge in Wasser gelöst und die Lösung in der Wärme mit Kupferoxydhydrat gesättigt wurde, entstand eine tiefblaue Lösung, aus welcher sich eine krystallinische Kupferverbindung ausschied; letztere lieferte bei der Zerlegung mittelst Schwefelwasserstoff eine Substanz, die das Verhalten der Phenylamidopropionsäure zeigte. Beim Erhitzen im Proberöhrchen gab dieselbe einen braunen geschmolzenen Rückstand und einen flüchtigen Körper, welcher sich im oberen Theile des Röhrchens in öligen Tropfen absetzte; aus einer Auflösung der letzteren in Salzsäure schied sich nach dem Zusatz von Platinchlorid eine schwer lösliche krystal-

linische Doppelverbindung aus. Als die beschriebene Substanz mit verdünnter Schwefelsäure und Kaliumbichromat am Rückflusskühler erhitzt wurde, trat der Geruch des Benzaldehyds auf; beim Erkalten lieferte die Flüssigkeit eine krystallinische Ausscheidung, welche Aussehen und Verhalten der Benzoesäure zeigte. Diese Thatsachen machen es höchst wahrscheinlich, dass hier Phenylamidopropionsäure (identisch mit der in den Lupinenkeimlingen von mir aufgefundenen Verbindung gleichen Namens) sich vorfand. Um diesen Körper mit völliger Sicherheit nachzuweisen und um entscheiden zu können, ob derselbe von Leucin oder von Amidovaleriansäure begleitet wird, würde eine grössere Substanzmenge erforderlich gewesen sein; zur Gewinnung der letzteren hätte aber ein sehr grosses Quantum von Soja-Keimlingen verarbeitet werden müssen. Denn diese Keimlinge gaben nur eine sehr geringe Ausbeute an Amidosäuren[1]).

Ich gehe zur Mittheilung der Resultate über, welche ich bei Untersuchung der Sojakeimlinge auf organische Stickstoffverbindungen basischer Natur erhielt. Da in einem von den Eiweissstoffen befreiten wässrigen Extract aus den genannten Keimlingen durch Phosphorwolframsäure ein starker Niederschlag hervorgebracht wurde, so vermuthete ich das Vorhandensein von Arginin. Ich suchte diese Base aus den Cotyledonen der Sojakeimlinge zu gewinnen, weil bei Untersuchung der Lupinenkeimlinge nur diese Theile mir Arginin geliefert hatten. Die getrockneten Cotyledonen wurden zuerst mit 95procentigem Weingeist, dann mit heissem Wasser extrahirt, der durch letzteres Lösungsmittel erhaltene Extract mit Gerbsäure, dann (ohne vorher zu filtriren) mit Bleizucker versetzt. Das Filtrat von dem so hervorgebrachten Niederschlage säuerte ich mit Schwefelsäure an, beseitigte das sich ausscheidende Bleisulfat durch Filtration und setzte dann eine wässrige Lösung von Phosphorwolframsäure zu. Der

---

[1]) In einem Falle vermochte ich aus solchen Keimlingen gar keine Amidosäuren zu gewinnen. Allerdings wurde in dem betreffenden Versuch nur eine relativ geringe Menge von Material (ca. 200 gr. lufttrocken) angewendet.

durch dieses Reagens hervorgebrachte weisse Niederschlag wurde abfiltrirt, kurze Zeit mit kaltem Wasser gewaschen, hierauf mit dem Filter auf Fliesspapier gebracht, um die aufgesogene Flüssigkeit möglichst zu entfernen. Dann zerlegte ich diesen Niederschlag mittelst Kalkmilch. Die von den unlöslichen Kalkverbindungen abfiltrirte Flüssigkeit wurde zur Entfernung des gelösten Kalkes mit Kohlensäure behandelt, dann mit Salpetersäure neutralisirt, im Wasserbade auf ein geringes Volumen eingedunstet, hierauf in einem Exsiccator über Schwefelsäure gestellt. Sie lieferte beim langsamen Verdunsten Krystalle von Kaliumnitrat; eine dem salpetersauren Arginin gleichende Ausscheidung vermochte ich nicht zu erhalten. Ich löste hierauf die Krystalle und die Mutterlauge in Wasser und versetzte die Lösung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd. Der durch dieses Reagens erzeugte Niederschlag wurde nach dem Abfiltriren und Auswaschen in Wasser aufgerührt und mittelst Schwefelwasserstoff zersetzt. Eine Probe der vom Schwefelquecksilber abfiltrirten und durch gelindes Erwärmen vom absorbirten Schwefelwasserstoff befreiten Flüssigkeit gab die Reactionen, welche einer Arginin-Lösung zukommen. Phosphorwolframsäure gab darin einen weissen, Phosphormolybdänsäure einen gelblichen Niederschlag; durch Kaliumwismuthjodid wurde ein rother, durch Kaliumquecksilberjodid unter Zusatz von Kalilauge ein weisser Niederschlag erzeugt; auf Zusatz von Pikrinsäure schieden sich aus der Flüssigkeit nach 12stündigem Stehen gelbe Krystalle aus. Ich neutralisirte nun den Rest der Flüssigheit mit Ammoniak und dunstete sodann im Wasserbade auf ein geringes Volumen ein. Krystalle von salpetersaurem Arginin vermochte ich auch aus dieser Flüssigkeit nicht zu erhalten. Beim Erwärmen der Flüssigkeit mit Kupferoxydhydrat entstand eine tiefblaue Lösung; letztere lieferte aber beim Verdunsten nicht die schwer löslichen Krystalle des Argininkupfernitrats.

Dass die von mir untersuchte Flüssigkeit eine organische Base enthielt, ist aus den mitgetheilten Reactionen zu schliessen. Diese Reactionen stimmen mit denjenigen des Arginins überein. Ob aber die letztere Base vorhanden war, ist doch frag-

lich, da ich weder ihr salpetersaures Salz, noch ihre Verbindung mit Kupfernitrat zur Abscheidung zu bringen vermochte. Allerdings würde sich das negative Resultat der bezüglichen Versuche vielleicht durch die Annahme erklären lassen, dass die untersuchte Flüssigkeit neben wenig Arginin andere Bestandtheile enthielt, welche die oben genannten Arginin-Verbindungen am Auskrystallisiren verhinderten.

Während ich Arginin nicht aus den Soja-Keimlingen gewinnen konnte, gelang dagegen leicht die Abscheidung einer Base, welche nach ihren Eigenschaften für Cholin erklärt werden muss. Dieselbe fand sich sowohl in den Cotyledonen als in den Axenorganen vor. Ich will zunächst die bei letzteren erhaltenen Resultate mittheilen. Die getrockneten Axenorgane wurden mit Alkohol von circa 90 Volum-Procent extrahirt, der Extract eingedunstet, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, die trübe Lösung durch Versetzen mit Gerbsäure und Bleizucker gereinigt, dann mittelst Schwefelwasserstoff vom überschüssigen Blei befreit, hierauf bis zum Syrup eingedunstet. Eine aus diesem Syrup erfolgende Ausscheidung, welche u. a. etwas Asparagin enthielt, wurde durch Filtration beseitigt. Die Mutterlauge löste ich in salzsäurehaltigem Alkohol und versetzte sie mit einer alkoholischen Quecksilberchloridlösung. Der durch dieses Reagens hervorgebrachte krystallinische Niederschlag wurde nach Verlauf von einigen Tagen abfiltrirt, dann mit kochendem Wasser behandelt, die Lösung durch Eindunsten concentrirt. Beim Erkalten erfolgte eine starke krystallinische Ausscheidung. Die Krystalle wurden zerrieben, in Wasser aufgerührt und mittelst Schwefelwasserstoff zersetzt. Ich dunstete die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Flüssigkeit, nachdem sie durch Natronlauge annähernd neutralisirt worden war, im Wasserbade zur Trockne ein und extrahirte den Rückstand mit starkem Alkohol. Die alkoholische Lösung lieferte beim Vermischen mit alkoholischer Platinchlorid-Solution einen gelblichen Niederschlag, welcher nach dem Abfiltriren und Auswaschen in heissem Wasser gelöst wurde. Die Lösung lieferte schöne orangerothe Krystalle, meist sechsseitige Tafeln (bekanntlich krystallisirt das

Chloroplatinat des Cholins in orangerothen sechsseitigen Tafeln). Ich löste das Platindoppelsalz wieder in Wasser, befreite die Lösung mittelst Schwefelwasserstoff vom Platin, dunstete sie dann auf ein geringes Volumen ein und versetzte mit Goldchlorid. Es entstand ein gelber Niederschlag, welchen ich aus Wasser umkrystallisirte. Das so gewonnene Salz stimmte sowohl im Aussehen wie im Goldgehalt mit dem Golddoppelsalz des Cholins überein. Die Analyse gab folgende Zahlen:

0,3600 gr. der zuerst über Schwefelsäure, dann bei 95° getrockneten Substanz hinterliessen beim Glühen 0,1595 gr. Au.

| | Gefunden: | Berechnet für $C^5H^{14}NOAuCl^4$: |
|---|---|---|
| Au = | 44,31 | 44,43 %[1]. |

Das Chlorhydrat der Base, erhalten durch Zerlegung des Platindoppelsalzes mittelst Schwefelwasserstoff, gab die folgenden, mit denen des Cholins übereinstimmenden Reactionen:

| | |
|---|---|
| Mit Phosphorwolframsäure | starker weisser Niederschlag, |
| » Phosphormolybdänsäure | starker gelblicher Niederschlag, |
| » Kaliumwismuthjodid | rother Niederschlag, |
| » Kaliumquecksilberjodid | gelber krystallinischer Niederschlag, |
| » Jod-Jodkalium | brauner Niederschlag, |
| » Gerbsäure | 0. |

Auch ein aus den Cotyledonen der Sojakeimlinge dargestellter alkoholischer Extract, verarbeitet in der gleichen Weise wie der alkoholische Extract aus den Axenorganen, lieferte eine dem Cholin gleichende Base. Das Chloroplatinat derselben krystallisirte aus Wasser in orangerothen, meist sechsseitigen Tafeln; das Chloraurat war schwer löslich in Wasser. Nachdem das letztere Salz aus Wasser umkrystallisirt worden war, wurde sein Goldgehalt bestimmt; dabei wurde ein auf Cholingoldchlorid stimmendes Resultat erhalten:

0,3000 gr. der zuerst über Schwefelsäure, dann bei 95° getrockneten Substanz hinterliessen beim Glühen 0,1320 gr. Au.

| | Gefunden: | Berechnet für $C^5H^{14}NOAuCl^4$: |
|---|---|---|
| Au = | 44,00 | 44,43 %. |

---

1) Au = 196,64, nach G. Krüss, Berichte d. D. Chem. Gesellsch., Bd. 20, S. 210.

In allen Punkten, auf welche die Untersuchung sich erstreckte, stimmte die aus den Sojakeimlingen erhaltene Base mit derjenigen überein, welche ich auf dem gleichen Wege aus Lupinen- und Kürbiskeimlingen abgeschieden und für Cholin erklärt habe. Für die Identität der letzteren mit Cholin kann ich aber zur Zeit noch einen weiteren Beweis beibringen. Aus einer von Herrn Dr. C. Schall in Zürich auf meine Bitte ausgeführten Untersuchung ergab sich nämlich, dass das Chloroplatinat dieser Base auch in krystallographischer Hinsicht mit Cholinplatinchlorid übereinstimmte. Der Genannte theilte mir über die Resultate dieser Untersuchung Folgendes mit: «Die Krystalle gehören dem monosymmetrischen System an und weisen die in der Abhandlung R. Böhm's[1]) für Cholinplatinchlorid angegebenen Formen auf.

Die aus dem Axenverhältniss und dem Neigungswinkel[2]) sich berechnenden Winkel sind im Folgenden angegeben und den Resultaten der Messungen gegenüber gestellt:

| | Berechnet: | Gefunden: |
|---|---|---|
| 100 : 210 | 29° 45,5′ | 29° 45′ |
| 210 : 010 | 60 14,5 | 60 20 |
| $1\overline{1}1$ : 111 | 59 2,2 | 58 44 |
| $\overline{1}\overline{1}1$ : $\overline{1}11$ | 61 58,6 | 62 10 |
| 111 : 010 | 60 28,9 | 60 55 |
| $\overline{1}11$ : 010 | 59 0,7 | 59 1 |
| $\overline{1}11$ : 111 | 52 27,2 | 52 63 |
| 111 : 100 | 60 48,7 | 60 50 |
| $\overline{1}11$ : 100 | 66 44,1 | 66 36,5 |

Diese Uebereinstimmung genügt, um die zweifellose Identität der Krystalle mit Cholinplatinchlorid auszuprechen.».

Was die aus den etiolirten Sojakeimlingen gewonnene Cholin-Quantität betrifft, so sei erwähnt, dass ich bei Ver-

---

1) Archiv f. experimentelle Pathologie u. Pharmakologie, Bd. 19, S. 60 u. 87. Die Messungen der Krystalle wurden im mineralogischen Institut zu Göttingen ausgeführt. Ebendaselbst wurde mit gleichem Resultat durch Rinne auch das Cholinplatinchlorid krystallographisch untersucht, welches E. Jahns bei Untersuchung der organischen Basen des Bockshornsamens dargestellt hat. M. vgl. Berichte d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 18, S. 2520.

2) M. vgl. die in der Abhandlung Böhm's gemachten Angaben.

arbeitung des alkoholischen Extracts aus 200 gr. der lufttrocknen Cotyledonen ungefähr 1/2 gr. des Golddoppelsalzes, bei Verarbeitung der gleichen Menge von Axenorganen ungefähr das doppelte Quantum erhielt.

Das Cholin, welches ich in etiolirten Lupinen-, Kürbis- und Sojakeimlingen nachgewiesen habe, ist in neuerer Zeit mehrfach in den Pflanzen aufgefunden worden. Nach P. Griess und G. Harrow[1]) findet es sich im Hopfen, nach E. Jahns[2]) im Bockshornsamen (Samen von Trigonella faenum graecum) und im indischen Hanf, nach H. Kunz[3]) in Atropa belladonna und in Hyoscyamus, sowie in der Ipecacuanha-Wurzel. Böhm[4]) fand es in Baumwollsamenkuchen, ferner auch in Bucheckernkuchen, sowie in verschiedenen Pilzen (Boletus luridus, Amanita pantherina und Helvella esculenta)[5]). Nach Brieger[6]) enthält das Mutterkorn Cholin. Nach O. E. v. Lippmann[7]) findet sich diese Base wahrscheinlich auch in der Rübenmelasse vor.

Auf Grund unserer gegenwärtigen Kenntnisse muss daher das Cholin für eine im Pflanzenreich sehr verbreitete Substanz erklärt werden.

Den im Vorigen über den Stoffgehalt der etiolirten Sojakeimlinge gemachten Angaben habe ich schliesslich noch hinzuzufügen, dass diese Keimlinge auch Basen der Hypoxanthin- und Xanthin-Gruppen enthielten. Als die vom Cholin-Quecksilber-Niederschlag (m. vgl. w. o.) abfiltrirte alkoholische Mutterlauge eingedunstet, der Rückstand in Wasser aufgenommen, die Flüssigkeit mittelst Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit, durch Eindunsten concentrirt und hierauf mit am-

---

1) Berichte d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 18, S. 717.
2) Ebendaselbst, Bd. 18, S. 2520; Chem. Centralblatt, 1887, S. 1082.
3) Archiv f. Pharmacie, Bd. 23, S. 701, Bd. 25, Heft 11.
4) Archiv f. experimentelle Pathologie u. Pharmakologie, Bd. 19, S. 60 u. 87.
5) Ebendaselbst.
6) Diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 184.
7) Berichte d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 20, S. 3208.

moniakalischer Silbersolution vermischt wurde, entstand ein gallertig-flockiger Niederschlag. Derselbe wurde abfiltrirt, ausgewaschen und sodann in heisser Salpetersäure vom specif. Gew. 1,1 gelöst. Die filtrirte Lösung lieferte beim Erkalten eine krystallinische Ausscheidung, deren Entstehen auf die Anwesenheit von Basen der oben genannten Gruppen hindeutet. Die Quantität derselben war nicht bedeutend. Welche einzelnen Basen vorhanden waren, habe ich nicht untersucht.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ist zu entnehmen, dass die etiolirten Sojakeimlinge in Bezug auf den Gehalt an denjenigen Stickstoffverbindungen, welche als Producte der regressiven Stoffmetamorphose zu betrachten sind, mit den etiolirten Lupinenkeimlingen so ziemlich übereinstimmen. Ein Unterschied scheint hauptsächlich darin zu liegen, dass die Lupinenkeimlinge viel Arginin enthalten, während solches in den Sojakeimlingen entweder gar nicht oder doch — falls es etwa vorhanden ist — nur in sehr geringer Menge sich findet.

# Beiträge zur Kenntniss der Milchsäure in der Thymus und Thyreoidea.

Von

**R. Moscatelli** in Rom.

(Aus dem physiologisch - chemischen Laboratorium.)

(Der Redaction zugegangen am 5. April 1888.)

Die Milchsäure ist schon von Gorup-Besanez[1]) in der Thymus und Thyreoidea gefunden worden. Da wir aber bis jetzt nur sehr geringe Kenntnisse über das Wesen dieser Milchsäure haben, habe ich es für zweckmässig gehalten, einige Untersuchungen über dieselbe anzustellen, namentlich um zu erfahren, welche von den drei uns bis jetzt bekannten Milchsäuren in jenen Drüsen erhalten ist.

Um die Milchsäure zu isoliren, habe ich die von Hoppe-Seyler[2]) angegebene Methode mit einer kleinen Modification gebraucht, welche ich hier kurz wiedergebe: Die genannten Organe wurden sehr fein zerkleinert, mehrmals mit einer Lösung von circa 0,2% $H_2SO_4$ in Siedetemperatur extrahirt und dann ausgepresst. Durch mehrfache Versuche habe ich nämlich gefunden, dass man durch Extrahiren mit einer leicht warmen Lösung von $H_2SO_4$ eine grössere Menge von Milchsäure erhält, als wenn man nur mit $H_2O$ bei gewöhnlicher Temperatur extrahirt. Um die Fette und die Eiweiss-

1) E. von Gorup-Besanez, Ueber die chemischen Bestandtheile einiger Drüsensäfte. Annal. der Chemie u. Pharmacie, Bd. XCVIII, S. 1.

2) Hoppe-Seyler, Handbuch der physiol. u. pathol. chem. Analysen, V. Aufl., S. 109.

stoffe zu trennen, liess ich die Flüssigkeit abkühlen und filtrirte sie dann. Das Filtrat wurde mit $BaO$ versetzt, so lange Niederschlag erfolgte, und dann das überflüssige $BaO$ durch einen Strom von $CO_2$ ausgefällt. Hierauf concentrirte ich das Filtrat auf dem Wasserbade bis zu einem dünnen Syrup, und zwar, indem ich gegen das Ende des Eindampfens die Temperatur bis zu 70° C. ermässigte, um Braunfärbung zu vermeiden. Den Syrup liess ich erkalten, mischte ihn allmälig mit absolutem Alcohol bis zu seinem 10fachen Volumen, rührte die Mischung gut um, liess sie kurze Zeit stehen und goss sie dann ab. Der Rückstand wurde mit ein wenig Wasser wieder gelöst und abermals mit Alcohol in gleicher Weise behandelt.

Die gesammte alcoholische Lösung wurde filtrirt, der Alcohol abdestillirt und der syrupartige Rückstand auf dem Wasserbade bei mässiger Wärme zur Entfernung des Alcohols digerirt. Den so erhaltenen Rest liess ich abkühlen und vermischte ihn dann mit einer kalten Lösung von einem Theil $H_2SO_4$ und zwei Theilen $H_2O$. Diese Lösung warf ich dann in einen Cylinder mit Glasverschluss und schüttelte sie mit einer grossen Menge Aether, den ich mehrmals erneuerte. Hierauf mischte ich das Aetherextract mit frisch gefälltem $ZnCO_3$ und liess es 24 Stunden stehen, indem ich es dann und wann umschüttelte. Den Aether destillirte ich auf dem Wasserbade ab und setzte zu dem Niederschlage noch ein wenig $ZnCO_3$ hinzu, schüttelte mit $H_2O$ und liess die Mischung etwa eine Stunde sieden. Nunmehr filtrirte ich heiss und wusch den Niederschlag mit warmem destillirten Wasser aus. Durch die warme wässerige Lösung liess ich einen starken Strom von $H_2S$ hindurchgehen, filtrirte heiss und behandelte abermals das warme Filtrat mit $H_2S$, so lange ein Niederschlag erfolgte. Jetzt concentrirte ich auf dem Wasserbade das helle Filtrat zu der Consistenz von Syrup, liess es abkühlen und löste es in Aether. Hinzu setzte ich $ZnCO_3$, dampfte den Aether ab und kochte den Rest mit $H_2O$. Endlich filtrirte ich von Neuem und stellte das Filtrat in einem Exsiccator mit $H_2SO_4$ an.

A. Von Kil. 2,500 Kalbsthymusdrüse erhielt ich auf diese Weise eine Säure, deren Zinksalz in regelmässigen, microscopischen, kurzen Prismen von verschiedener Grösse krystallisirte, ähnlich dem Zinkparalactat, das Wislicenus[1]) beschrieben hat. Diese Krystalle waren fast unlöslich in absolutem Alcohol, dagegen löslich in 17,5 Theilen $H_2O$ bei 15°. Für 2 Stunden in den Ofen bei 110° zum Trocknen gelegt, verlieren gr. 0,24 Substanz 0,03 $H_2O$. Dies entspricht einem Wassergehalt von 12 %. Das Zinkparalactat enthält 12,9 % Krystallwasser[2]).

B. Das in der Schilddrüse von Ochsen bei Verwendung von Kil. 3,00 gefundene Lactat war löslich in 17,5 Theilen $H_2O$. Gr. 0,423 Substanz verlieren beim Trocknen 0,054 $H_2O$. Dieser Verlust entspricht einem Gehalt von 12,765 % an $H_2O$.

Endlich wurde das Zinkparalactat mit etwas Schwefelpulver gemischt und in einem kleinen Porzellantiegel calcinirt, durch welchen ich einen Strom von H ziehen liess. Nach dem Abkühlen wog ich und erhielt 0,663 Substanz, welche mir 0,165 Zn = 24,884 % Zn ergab.

Das Krystallwasser, sowie das Zinkgewicht lassen annehmen, dass die aus der Thymus- und Thyreoideadrüse erhaltene Säure die Paramilchsäure ist.

---

1) Wislicenus, Ueber die optisch-active Milchsäure der Fleischflüssigkeit, die Paramilchsäure. Annalen der Chemie und Pharmacie. Bd. CLXVII, S. 309.

2) Hoppe-Seyler, l. c., S. 105.

# Zur Kenntniss der schwefelhaltigen Verbindungen der Cruciferen.

Von

**William J. Smith.**

(Der Redaction zugegangen am 6. April 1888.)

Man kennt bis jetzt nur einige wenige organische schwefelhaltige Verbindungen, welche ausser dem Eiweiss und ähnlichen Substanzen im thierischen Organismus vorkommen, das Taurin, das Cystin, und Rhodanverbindungen, ausserdem die Aetherschwefelsäuren verschiedener Verbindungen der aromatischen Reihe. Mit Ausnahme der Aetherschwefelsäuren entstehen die Stoffe im Thierkörper ausschliesslich aus dem Eiweiss. Die Aetherschwefelsäuren dagegen werden aus Schwefelsäure und organischen Verbindungen unter Wasserabspaltung gebildet, sie stehen also in weniger directer Beziehung zu dem Eiweiss als die erstgenannten Stoffe.

In den Pflanzen treten zahlreiche schwefelhaltige Verbindungen auf, von welchen man directe Beziehungen zum Eiweiss noch nicht kennt. Es ist wahrscheinlich, dass ein derartiger näherer Zusammenhang dieser Stoffe, wie er im Thierkörper besteht, im Allgemeinen nicht vorkommt. Es ist indessen sehr bemerkenswerth, dass nur einzelne Pflanzenfamilien dadurch ausgezeichnet sind, dass sie schwefelhaltige Verbindungen besonderer Art erzeugen; hierher gehören vor Allem die Cruciferen.

Dass organische Schwefelverbindungen, welche in keiner directen Beziehung zum Eiweiss in Samen und anderen Theilen der Cruciferen vorkommen, ist seit langer Zeit bekannt. Bussy[1]) hat aus dem schwarzen Senf das myronsaure Kalium

[1]) Annalen der Chemie, Bd. 34, S. 223.

schon im Jahre 1840 isolirt. Aber erst 20 Jahre später wurde festgestellt, dass der Schwefel der Myronsäure nicht ausschliesslich dem bei der Spaltung auftretenden Senföl angehört. Ludwig und Lange[1]) beobachteten zuerst, dass diese Säure nicht bloss Senföl, sondern auch Schwefelsäure liefert; sie gaben aber eine falsche Formel für diese Zersetzung, weil sie glaubten, dass sie eine schwefelige — statt eine schwefelsaure Gruppe enthalte. Ein Jahr später (1861) gaben Will und Körner[2]) einen vorläufigen Bericht ihrer Analyse der Myronsäure und zeigten, dass sie die Elemente von Zucker, Senföl und Schwefelsäure enthält, dass sie thatsächlich eine Aetherschwefelsäure ist. Sie machten[3]) auch später auf die Wahrscheinlichkeit einer Analogie zwischen der Constitution der Myronsäure und derjenigen des Albumens aufmerksam, weil in beiderlei Substanzen der Schwefel theilweise mit Kohlenstoff und theilweise mit Sauerstoff verbunden ist. Seitdem wurde noch eine Aetherschwefelsäure in einer Crucifere entdeckt, das Sinalbin, in den Samen von Sinapis alba von Will[4]). Dieses Glykosid ist bis jetzt in keiner anderen Pflanze der Familie der Cruciferen gefunden worden. Man weiss aber, dass Myronsäure, obwohl thatsächlich nur aus Sinapis nigra isolirt, in verschiedenen anderen Cruciferen existirt, weil Allylsenföl aus denselben erhalten worden ist.

## 1. Ueber den Gehalt verschiedener Cruciferensamen an Aetherschwefelsäuren.

Das Vorkommen der Aetherschwefelsäuren in den Pflanzen ist bis jetzt wenig beachtet worden. Tammann[5]) hat eine kleine Menge davon in keimenden Erbsen entdeckt. Es schien daher zunächst von Interesse, zu ermitteln, ob in den Cruciferensamen die schwefelhaltigen organischen Verbindungen stets Aetherschwefelsäuren darstellen, und in welcher Ver-

---

1) Zeitschr. Chem. Pharm., 1860.
2) Annalen der Chemie, Bd. 119, 1861.
3) Annalen der Chemie, Bd. 125, 1863.
4) Chem. Centralbl., Bd. 148, 1870.
5) Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. 9, 1885.

breitung die letzteren in den Pflanzen obengenannter Familie vorkommen.

Da das Ferment, welches die Aetherschwefelsäuren der Cruciferen spaltet, durch Salzsäure von 0,3 % zerstört oder unwirksam gemacht wird, während eine Säure von dieser Concentration das Glykosid, d. h. die Aetherschwefelsäure, auch bei längerer Einwirkung nicht zersetzt, so war es nicht schwer, den Gehalt der Aetherschwefelsäuren in den Cruciferen genau zu bestimmen. Dabei wurde in folgender Weise verfahren:

5 gr. des gepulverten Samens wurden mit Salzsäure von 0,3 % ausgezogen. Die filtrirte Lösung wurde mit Chlorbarium versetzt, der etwa ausgefällte schwefelsaure Baryt wurde am folgenden Tage abfiltrirt und gewogen. Das Filtrat dieses Niederschlages wurde mit 20 bis 30 cbcm. starker Salzsäure versetzt und 2 Stunden lang gekocht. Dabei trat immer eine völlige Spaltung des Glykosid ein und eine entsprechende Abscheidung von Bariumsulfat. Letzteres wurde abfiltrirt und gewogen.

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse einer grösseren Zahl quantitativer Bestimmungen enthalten, welche über die Mengen der gepaarten und der nicht gepaarten Schwefelsäure in den Samen verschiedener Cruciferen Aufschluss geben:

| | Procentgehalt der Samen an Schwefel | | |
|---|---|---|---|
| | in Form von ungepaarter Schwefelsäure. | in Form von gepaarter Schwefelsäure. | in beiden Formen. |
| Sinapis nigra . . . . . . | 0,0038 | 0,5096 | 0,5134 |
| » . . . . . . . | 0,0066 | 0,4846 | 0,4912 |
| » . . . . . . . | 0 | 0,4887 | 0,4887 |
| » . . . . . . . | — | 0,4791 | — |
| » . . . . . . . | 0 | — | — |
| Rhaphanus sativus . . . . | — | 0,4318 | — |
| » . . . . | 0 | 0,4213 | 0,4213 |
| » . . . . | — | 0,3988 | — |
| » . . . . | 0 | 0,3440 | 0,3440 |
| » . . . . | 0 | 0,3424 | 0,3424 |

| | Procentgehalt der Samen an Schwefel | | |
|---|---|---|---|
| | in Form von ungepaarter Schwefelsäure. | in Form von gepaarter Schwefelsäure. | in beiden Formen. |
| Lepidium sativum. . . . . | 0,0018 | — | — |
| » . . . . . . | — | 0,4483 | — |
| Sinapis alba . . . . . . . | 0 | — | — |
| » . . . . . . . . | — | 0,4370 | — |
| Cheiranthus annuus . . . . | 0 | 0,4637 | 0,4637 |
| Iberis . . . . . . . . . . | 0 | 0,4620 | 0,4620 |
| » amara. . . . . . . | 0 | 0,3526 | 0,3526 |
| Lunaria . . . . . . . . . | 0 | 0,3770 | 0,3770 |
| Alyssum Benthami . . . . | 0 | 0,3625 | 0,3625 |
| Mathiola bicornis . . . . . | 0 | 0,3169 | 0,3169 |
| Brassica oleracea . . . . | 0 | 0,2956 | 0,2956 |
| » napus . . . . . . | 0 | — | — |
| » » . . . . . . | 0 | 0,2711 | 0,2711 |
| » rapa . . . . . . | 0 | — | — |
| » » . . . . . . | 0 | 0,1562 | 0,1562 |
| » » . . . . . . | 0 | 0,1397 | 0,1397 |
| Hesperis . . . . . . . . . | 0 | 0,2706 | 0,2706 |
| Erysimum Perowyskianum. . | 0,0299 | 0,2425 | 0,2724 |
| » » . . | 0,0569 | 0,2412 | 0,2981 |
| Nasturtium officinale. . . . | 0,0040 | — | — |
| » » . . . . | — | 0,2720 | — |
| » » . . . . | 0 | 0,2865 | 0,2865 |
| Cochlearia officinalis . . . . | 0 | — | — |
| » » . . . . | — | 0,2538 | — |
| » » . . . . | — | 0,2497 | — |
| Isatis tinctoria . . . . . . | 0,0885 | — | — |
| » » . . . . . . | 0,1064 | — | — |
| » » . . . . . . | — | 0,2466 | — |
| Arabis alpina . . . . . . | 0,0253 | 0,1047 | 0,1300 |

Es ist ersichtlich, dass nur die Samen von Isatis tinctoria eine merkenswerthe Menge ungepaarter Schwefelsäure enthalten, und da die Hülle bei diesen viel beträchtlicher ist, so schien es nicht unwahrscheinlich, dass die ungepaarte Schwefelsäure von der Hülle herrührte. Diese Vermuthung wurde durch die folgenden Analysen bestätigt, in welchen man so viel wie möglich Samen und Hülle von einander trennte.

| • | Ungepaarte Säure. | Gepaarte Säure. |
|---|---|---|
| 5 gr. Hüllen von Samen fast befreit | 0,0680 gr. Ba $SO_4$ | 0,0201 gr. Ba $SO_4$ |
| 5 gr. Samen von Hüllen fast befreit | 0,0026 gr. Ba $SO_4$ | 0,1142 gr. Ba $SO_4$ |

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, enthalten die Samen von Sinapis nigra die grössten Mengen an gebundener Schwefelsäure. Es war desshalb von Interesse, zu erfahren, wie die Gesammtmenge des Schwefels im schwarzen Senf sich zu der Menge von gepaarter plus ungepaarter Schwefelsäure verhält. Man wird kaum fehlgehen, wenn man die Differenz dieser beiden Werthe für Schwefel auf die in den Samen enthaltenen Eiweisskörper berechnet. Es wurde zu diesem Zwecke die Gesammtmenge an Schwefel in zwei Proben von schwarzem Senf ermittelt. Der Versuch ergab in einem Falle 1,64, im anderen 1,69 % Schwefel. Somit ist wenig mehr als $^1/_3$ des Schwefels in Form von Eiweiss und $^2/_3$ in Form von Myronsäure in Senf enthalten.

Dass die Bestimmung der gebundenen Schwefelsäure im Senf ein einfaches Mittel ist, um die aus dem Senfsamen darstellbare Menge an ätherischem Senföl zu ermitteln, darauf mag hier nur beiläufig hingewiesen werden.

## 2. Spaltung der Aetherschwefelsäure durch die in den Samen enthaltenen Fermente.

Die Abspaltung der Schwefelsäure aus den Glykosiden, bezw. Aetherschwefelsäuren, in den Cruciferensamen durch das in den Samen gleichfalls enthaltene Ferment tritt ein, wenn man die gepulverten Samen mit Wasser bei Sommertemperatur stehen lässt. Allein der Verlauf dieser Spaltung ist ein sehr verschiedener bei den verschiedenen Arten.

Bei manchen Samen, z. B. Brassica napus, findet die Spaltung der Aetherschwefelsäure sehr langsam statt, so zwar, dass dieselbe nach 1—2 Tagen kaum begonnen hat; in anderen Fällen, wie bei Sinapis alba und Lepidium sativum, ist diese Zersetzung in 1—2 Tagen so gut wie beendigt.

Die in folgender Tabelle zusammengestellten Versuche sind wieder mit je 5 gr. der gepulverten Samen ausgeführt worden. Letztere wurden in 200 cbcm. destillirtem Wasser vertheilt, bei ca. 20—25° eine bestimmte Zeit lang bei Seite gestellt. Sollte die Einwirkung der Fermente unterbrochen werden, so fügte man so viel Salzsäure hinzu, dass die gesammte Flüssigkeit 0,3% Chlorwasserstoff enthielt. Hieraufwurde in der abfiltrirten Lösung die Menge der abgespaltenen und der noch gebundenen Schwefelsäure in der oben beschriebenen Weise ermittelt.

| | Mit Wasser. | Procentgehalt an Schwefel | | | Spaltung des Glykosides in Procenten der urspr. Gesammtmenge. |
|---|---|---|---|---|---|
| | | in Form von ungepaarter Schwefelsäure. | in Form von gepaarter Schwefelsäure. | entsprech. der Gesammt-Schwefelsäure. | |
| Sinapis nigra . . . | 1 Tag | 0,3900 | 0,1177 | 0,5077 | 76,8 |
| » » . . . | 3 Tage | 0,3149 | 0,1058 | 0,4207 | 74,8 |
| » » . . . | 4 Tage | 0,3861 | 0,0322 | 0,4183 | 92,3 |
| Raphanus sativus . | 1 Tag | 0,3493 | 0,0814 | 0,4307 | 81,1 |
| » » . | mehr als 3 | 0,3779 | 0,0761 | 0.4540 | 83,2 |
| Lepidium sativum . | 1 Tag | 0,4109 | 0,0440 | 0,4549 | 90,3 |
| » » . | 7 Tage | 0,4337 | 0 | 0,4337 | 100 |
| Sinapis alba . . . | 1 Tag | 0,3714 | 0,0654 | 0,4368 | 85,0 |
| Brassica rapa 1. | 1 Tag | 0,0627 | 0,0902 | 0,1529 | 41,0 |
| » » 2. | mehr als 2 | 0,0478 | 0,0990 | 0,1468 | 32,5 |
| Brassica napus 1. | 1 Tag | 0,0026 | 0,2698 | 0,2724 | 0,95 |
| » » 2. | mehr als 2 | 0,0013 | 0,2838 | 0,2851 | 0,45 |
| » » 3. | 3 Tage | 0,1895 | 0.1020 | 0,2915 | 65,0 |
| » » 4. | mehr als 3 | 0,1441 | 0,0970 | 0,2411 | 59,7 |
| Nasturtium officinale | 1 Tag | 0,1094 | 0,1506 | 0,2600 | 42,0 |
| Cochlearia officinalis | 1 Tag | 0,1592 | — | — | — |
| » » | 1 Tag | 0,1548 | 0,1149 | 0,2697 | 57,3 |
| » » | mehr als 3 | 0,1633 | 0,0726 | 0,2359 | 69,2 |
| Isatis tinctoria . . | 1 Tag | 0,1757 | 0,1113 | 0,2870 | 61,2 |
| » » . . | mehr als 3 | 0,2222 | 0,1344 | 0,3566 | 62,3 |

Die in der Tabelle enthaltenen Versuche sind alle während des Sommers bei Zimmertemperatur angestellt worden, wobei die täglichen Schwankungen der Temperatur nicht notirt wurden, obschon die Wirkung der Fermente in einer

gewissen Abhängigkeit von der Temperatur stehen muss. Unregelmässigkeiten beim Verlauf der Schwefelsäureabspaltung (s. Tabelle bei Brassica napus und Brassica rapa) sind ohne Zweifel durch Temperaturunterschiede herbeigeführt worden. Da es sich aber hier wesentlich um vergleichende Beobachtungen handelte, konnte der Einfluss der Temperatur im einzelnen Falle unberücksichtigt bleiben.

## 3. Ueber das Verhalten der Aetherschwefelsäuren bei der Keimung.

Dass die Myronsäure des schwarzen Senfs bei der Keimung zerlegt wird, ist schon durch frühere Beobachter festgestellt worden. Ich habe mich bemüht, den Einfluss des Keimungsprocesses bei Rettig auf die schwefelhaltigen Verbindungen des Samens genau zu verfolgen. Die Versuche wurden mit 5 gr. der Samen so ausgeführt, dass letztere auf benetztem Filtrirpapier in einer Glasschale ausgebreitet wurden. Die Schale wurde, um die Verdunstung zu verhüten, mit einer Glasplatte bedeckt. Nach Ablauf einer bestimmten Zeit wurden die gekeimten Samen oder jungen Pflanzen zerrieben, und zur Bestimmung der präformirten und der gebundenen Schwefelsäure ebenso behandelt, wie es früher bei den Samen beschrieben worden ist.

Das Resultat dieser Versuche war zunächst, dass die Aetherschwefelsäure (das Glykosid) des Rettigsamens während der Keimung allmälig völlig gespalten wird: am 2. bis 3. Tage der Keimung war in der Regel etwa die Hälfte der gebundenen Schwefelsäure abgespalten, nach 11—12 Tagen war diese Spaltung nahezu beendigt. Nachdem der ganze Vorrath des schwefelhaltigen Glykosides bei der Keimung zerlegt ist, findet bald wieder eine Neubildung dieser Substanz statt, welche in einige Wochen alten Pflänzchen stets wieder in bemerkenswerther Menge sich vorfindet. Die frischen Blätter von 3 bis 4 Wochen alten Rettigpflänzchen enthielten beispielsweise an Schwefel in Form von schwefelsauren Salzen 0,035 % gegenüber 0,0209 % Schwefel in Form von Aetherschwefelsäure.

Folgende Tabelle zeigt den Verlauf der Abspaltung der Aetherschwefelsäure bei der Keimung von Rettigsamen vom 2. bis zum 20. Tage des Keimungsprocesses im Dunkeln:

| | Procentgehalt gekeimter Samen an Schwefel | | | Verhältniss der durch Keimung abgespaltenen Schwefelsäure zur Gesammtmenge. | Dauer des Keimens. |
|---|---|---|---|---|---|
| | in Form von ungepaarter Schwefelsäure. | in Form von gepaarter Schwefelsäure. | in beiden Formen. | | |
| Raphanus sativus . | 0,2552 | 0,1377 | 0,3929 | 64,9 % | 2 Tage |
| » » . | 0,2362 | 0,1972 | 0,4334 | 54,4 % | 3 » |
| » » . | 0,2571 | 0,0593 | 0,3164 | 81,2 % | 5 » |
| » » . | 0,2571 | 0,0904 | 0,3475 | 73,1 % | 6 » |
| » » . | 0,3616 | 0,0066 | 0,3682 | 98,2 % | 11 » |
| » » . | 0,3349 | 0,0060 | 0.3409 | 98,2 % | 11 » |
| » » . | 0,4062 | 0,0019 | 0,4081 | 99,5 % | 12 » |
| » » . | 0,3869 | 0,0042 | 0,3911 | 98,1 % | 20 » |

Hierbei ist noch zu bemerken, dass bei obigen Versuchen die keimenden Samen von Pilzen nicht absolut frei waren.

Einige Beobachtungen zeigten, dass die Keimung im Licht merklich langsamer statt hat als im Dunkeln. Bei einigen Pflanzen ist dieser Einfluss des Lichts auf das Wachsthum der Keimlinge ermittelt worden[1]. Tammann[2]) hat an Erbsen beobachtet, dass dieselben, bei der Keimung im Dunkeln, weniger gebundene Schwefelsäure enthalten, als wenn die Keimung im Lichte erfolgt. Ich habe zwei Versuche angestellt, welche deutlich zeigen, dass die Zersetzung der Aetherschwefelsäure des Rettigsamens, bei der Keimung im Dunkeln, entsprechend dem schnelleren Wachsthum der Keimlinge, rascher erfolgt als bei Lichtzutritt.

| | | Procentgehalt der gekeimten Samen an Schwefel | | | Abgespaltene Schwefelsäure in Procenten der gesammten Schwefelsäure. | Dauer des Keimens. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | in ungepaarter Schwefelsäure. | in gepaarter Schwefelsäure. | in beiden Formen. | | | |
| 1. | Raphanus sativus | 0,2893 | 0,0687 | 0,3580 | 80,8 | 7 Tage | Im Lichte. |
| | » » | 0,2959 | 0,0140 | 0,3099 | 95,4 | 7 » | Im Dunkeln. |
| 2. | » » | 0,2007 | 0,1344 | 0,3354 | 59,8 | 9 » | Im Lichte. |
| | » » | 0,2566 | 0,0610 | 0,3176 | 80,7 | 9 » | Im Dunkeln. |

[1]) Pfeffer, Pflanzenphysiol., 1881, Bd. 2, S. 137 ff.
[2]) Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. 9, 1885.

Der Unterschied der Gesammtschwefelsäure der Samen, vor und nach dem Keimen, darf wohl dem Verbrauch von Schwefel bei der Eiweissbildung zugeschrieben werden. Man könnte somit die Aetherschwefelsäuren als eine Vorstufe bei der Eiweissbildung in diesen Pflanzen ansehen. Indessen ist die von mir beim Keimen beobachtete durchschnittliche Abnahme der Gesammtschwefelsäure doch nicht grösser, als die Differenzen von einzelnen Bestimmungen in verschiedenen Proben des ungekeimten Samens. Jedenfalls sprechen die mitgetheilten Versuche in keinem Falle dafür, dass bei der Keimung des Rettigsamens eine Zunahme der Gesammtschwefelsäure stattfinde. Tammann ist bei seinen Beobachtungen über die Keimung der Erbsen zu einem entgegengesetzten Resultate gelangt: er fand dabei eine Zunahme der Schwefelsäure, welche auf Kosten von zersetztem Eiweiss erfolgt sein muss.

## 4. Ueber die Fermente der Cruciferensamen.

Es wurde weiterhin versucht, zu ermitteln, ob das die Aetherschwefelsäuren spaltende Ferment in den verschiedenen Cruciferen dasselbe ist oder nicht. Zu diesem Zwecke wurde zunächst festgestellt, dass das in den Samen enthaltene Ferment vollkommen zerstört wird, wenn man die gepulverten Samen in einem dünnwandigem Glasgefäss, welches oben offen ist, eine Zeit lang (1 Stunde) in kochendem Wasser erhitzt. Wurde der so von Ferment befreite Samen mit Wasser extrahirt, so enthielt der Wasserauszug bei Rettigsamen und bei schwarzem Senf überhaupt keine nachweisbare Menge von ungepaarter Schwefelsäure.

| | Bariumsulfat von ungepaarter Schwefelsäure. | Bariumsulfat von gepaarter Schwefelsäure. |
|---|---|---|
| Raphanus sativus (5 gr.) . . . . | 0 | 0,1552 gr. |
| Sinapis nigra (5 gr.) . . . . . . | 0 | — |

Ferner wurde festgestellt, dass das in den Samen enthaltene Ferment nicht bloss das in gleichen Samen enthaltene

Glykosid zu zersetzen im Stande ist, sondern in wesentlich grösserer Menge. Denn wenn man einen fermentfrei gemachten Auszug der Samen mit einem fermenthaltigen Extracte derselben Samen vermischt und stehen lässt, so wird eine erheblich grössere Menge Schwefelsäure abgespalten, als der Gesammtmenge von Aetherschwefelsäure entspricht, welche in dem fermenthaltigen Auszuge der Samen enthalten ist.

5 gr. gepulverte und fermentfreie plus 5 gr. gepulverte frische Samen 3 Tage in Wasser:

| | Bariumsulfat von ungepaarter Schwefelsäure. | Bariumsulfat von gepaarter Schwefelsäure. | Gesammt-Bariumsulfat. |
|---|---|---|---|
| Raphanus sativus. | 0,2234 gr. | 0,1081 gr. | 0,3315 gr. |

5 gr. gepulverte frische Samen mehr als 3 Tage in Wasser:

| | Bariumsulfat von ungepaarter Schwefelsäure. | Bariumsulfat von gepaarter Schwefelsäure. | Gesammt-Bariumsulfat. |
|---|---|---|---|
| Raphanus sativus. | 0,1389 gr. | 0,0290 gr. | 0,1679 gr. |

5 gr. fermentfreie plus 5 gr. fermenthaltige Samen 3 Tage in Wasser:

| | Bariumsulfat von ungepaarter Schwefelsäure. | Bariumsulfat von gepaarter Schwefelsäure. | Gesammt-Bariumsulfat. |
|---|---|---|---|
| Sinapis nigra . . | 0,3389 gr. | 0,0313 gr. | 0,3702 gr. |

5 gr. gepulverte frische Samen 4 Tage in Wasser:

| | Bariumsulfat von ungepaarter Schwefelsäure. | Bariumsulfat von gepaarter Schwefelsäure. | Gesammt-Bariumsulfat. |
|---|---|---|---|
| Sinapis nigra . . | 0,1404 gr. | 0,0190 gr. | 0,1594 gr. |

Durch weitere Versuche wurde ermittelt, dass das Ferment des Rettigsamens das Glykosid des Senfsamens, ebenso dass das Ferment des Senfsamens das Glykosid des Rettigsamens zerlegt.

5 gr. gepulverte fermentfreie Samen von Sinapis nigra plus 5 gr. gepulverte fermenthaltige Samen von Raphanus sativus 3 Tage in Wasser:

| Bariumsulfat von ungepaarter Schwefelsäure. | Bariumsulfat von gepaarter Schwefelsäure. | Gesammt-Bariumsulfat. |
|---|---|---|
| 0,3041 gr. | 0,0388 gr. | 0,3429 gr. |

5 gr. gepulverte frische Samen von Raphanus sativus mehr als 3 Tage in Wasser:

| Bariumsulfat von ungepaarter Schwefelsäure. | Bariumsulfat von gepaarter Schwefelsäure. | Gesammt-Bariumsulfat. |
|---|---|---|
| 0,1389 gr. | 0,0292 gr. | 0,1681 gr. |

5 gr. gepulverte fermentfreie Samen von Raphanus sativus plus 5 gr. gepulverte fermenthaltige Samen von Sinapis nigra 4 Tage in Wasser:

| Bariumsulfat von ungepaarter Schwefelsäure. | Bariumsulfat von gepaarter Schwefelsäure. | Gesammt-Bariumsulfat. |
|---|---|---|
| 0,1764 gr. | 0,1333 gr. | 0,3097 gr. |

5 gr. gepulverte frische Samen von Sinapis nigra 4 Tage in Wasser:

| Bariumsulfat von ungepaarter Schwefelsäure. | Bariumsulfat von gepaarter Schwefelsäure. | Gesammt-Bariumsulfat. |
|---|---|---|
| 0,1404 gr. | 0,0190 gr. | 0,1594 gr. |

Da das Ferment einer Art Samen auf das Glykosid eines anderen wirken kann, so wird der Betrag der durch

Versetzung der verschiedenen Auszüge entstehenden Zerspaltung, wenn das Ferment in allen Fällen das gleiche ist, ceteris paribus, nicht nur von der Menge des Fermentes und des Glykosides abhängen, sondern auch von der mehr oder weniger leichten Spaltbarkeit, d. h. der Natur, des Glykosides abhängig sein. Weil nun das Glykosid nicht in allen Cruciferensamen identisch (vielmehr bei den meisten verschieden) ist, wurden Ermittelungen über die Natur des Fermentes in der Art angestellt, dass man in mehreren Fällen das Ferment einer Crucifere auf das Glykosid, welches in den Samen anderer Cruciferenarten enthalten ist, einwirken liess.

5 gr. fermentfreie und 5 gr. fermenthaltige Samen von Raphanus sativus blieben 3 Tage mit 200 cbcm. Wasser in Berührung; nach Zerstörung des Fermentes durch Salzsäure wurde abfiltrirt und in der Lösung wie früher gepaarte und ungepaarte Schwefelsäure bestimmt.

Bei einem zweiten Versuch wurden 5 gr. fermentfreie Samen von Sinapis nigra mit 5 gr. fermenthaltigen Samen von Raphanus sativus in gleicher Weise behandelt. Das Ergebniss des Versuches ist folgendes:

| | Procentgehalt an Schwefel | | |
|---|---|---|---|
| | 1) in Form von ungepaarter Schwefelsäure. | 2) in Form von gepaarter Schwefelsäure. | entsprechend der Gesammt-Schwefelsäure. |
| Glykosid von Raphanus sativus + Ferment (und Glykosid) von Raphanus sativus . . | 0,3050 | 0,1486 | 0,4536 |
| Glykosid von Sinapis nigra + Ferment (und Glykosid) von Raphanus sativus . . | 0,4181 | 0,0533 | 0,4714 |

In einer weiteren Reihe von Versuchen liess man die Fermente verschiedener Cruciferensamen auf fermentfreie Samen von Raphanus sativus und in einer zweiten Reihe dieselben Fermente auf das Glykosid von Sinapis nigra einwirken.

Glykosid von Raphanus sativus:

| Mit dem Ferment (plus Glykosid): | Procentgehalt an Schwefel | | |
|---|---|---|---|
| | in Form von ungepaarter Schwefelsäure. | in Form von gepaarter Schwefelsäure. | entsprechend der Gesammt-Schwefelsäure. |
| Von Lepidium sativum . . . | 0,1933 | 0,2373 | 0,4306 |
| » Cochlearia officinalis . . | 0,1625 | 0,2061 | 0,3686 |
| » Brassica rapa . . . . | 0,1236 | 0,1692 | 0,2928 |
| » Brassica napus . . . . | 0,1279 | 0,1489 | 0,2768 |

Glykosid von Sinapis nigra (Myronsäure Kali):

| Mit dem Ferment (plus Glykosid): | Procentgehalt an Schwefel | | |
|---|---|---|---|
| | in Form von ungepaarter Schwefelsäure. | in Form von gepaarter Schwefelsäure. | entsprechend der Gesammt-Schwefelsäure. |
| Von Lepidium sativum . . . | 0,3787 | 0,0316 | 0,4103 |
| » Cochlearia officinalis . . | 0,3124 | 0,0468 | 0,3592 |
| » Brassica rapa . . . . | 0,2680 | 0,0452 | 0,3132 |
| » Brassica napus . . . . | 0,3501 | 0,0611 | 0,4112 |

In der ersten Versuchsreihe, in welcher auf das Glykosid von Raphanus sativus die Fermente von Lepidium sativum, Cochlearia officinalis, Brassica rapa und Brassica napus einwirkten, betrug die abgespaltene Schwefelsäuremenge in Procenten von der Gesammt-Schwefelsäure:

44,9 44,1 42,2 46,3.

Als das Glykosid von Raphanus sativus durch das von schwarzem Senf, ceteris paribus, ersetzt wurde, veränderten sich diese procentischen Werthe zu:

92,2 87,0 85,6 85,1.

Aus den Versuchen der beiden Tabellen geht hervor, dass das Glykosid von schwarzem Senf durch die Fermente der verschiedenen Cruciferensamen stets leichter gespalten wird, als das Glykosid von Raphanus sativus. Eine Consequenz dieser Thatsache ist natürlich der Schluss, dass im

Raphanus sativus kein myronsaures Kali, sondern ein davon verschiedenes Glykosid enthalten ist. Diesen Nachweis kann man (natürlich) auch auf anderem Wege noch einfacher führen: denn bei der Destillation von Rettigsamen, welcher zerkleinert einige Tage lang mit Wasser in Berührung war, erhält man kein Allylsenföl (vergl. Pless, Annal. der Chemie, Bd. 58, S. 36).

Sehr bemerkenswerth erscheint die Thatsache, dass das Ferment von Brassica napus, welches auf das Glykosid derselben Pflanze so langsam einwirkt (s. S. 424), dass die Abspaltung der Schwefelsäure erst nach 2—3 Tagen bemerklich wird, auf das Glykosid von Raphanus sativus viel energischer einwirkt, und das myronsaure Kali ebenso leicht spaltet, als das im Senf enthaltene Ferment (Myrosin).

Man kann daher wohl den Schluss ziehen, dass alle Cruciferensamen ein und dasselbe Ferment enthalten; dass dagegen die Aetherschwefelsäuren (Glykoside) hinsichtlich ihrer Spaltbarkeit durch das Ferment die grössten Unterschiede zeigen.

Es ist bekannt, dass in vielen Fällen bei der Keimung diejenigen Fermente erst gebildet oder vermehrt werden, deren Wirkung während der Keimung in die Erscheinung tritt.

Eine directe Bestimmung, ob bei der Keimung von Cruciferensamen das Ferment zunimmt, ist nicht wohl ausführbar. Doch liess sich zeigen, dass das Ferment während der Keimung an seiner Wirksamkeit bis zum 6. Tage nichts verloren hat.

Die 3 und 6 Tage alten Keimlinge aus je 5 gr. Samen von Raphanus sativus wurden einerseits mit verdünnter Salzsäure (von 0,3 % HCl) behandelt, eine andere gleiche Menge von Keimlingen wurde mit Wasser zerrieben und 24 Stunden lang der weiteren Einwirkung des in den Pflänzchen enthaltenen Fermentes überlassen. In beiderlei Auszügen wurde die gepaarte und ungepaarte Schwefelsäure bestimmt. Zum Vergleich wurde dieselbe Behandlung mit je 5 gr. ungekeimten Samen durchgeführt:

| Gekeimt: | Procentgehalt an Schwefel in Form von ungepaarter Schwefelsäure. | in Form von gepaarter Schwefelsäure. | entsprech. der Gesammt-Schwefelsäure. | |
|---|---|---|---|---|
| | | Nach der Keimung. | | |
| 3 Tage | 0,2362 | 0,1972 | 0,4334 | Mit 0,3% Salzsäure behandelt. |
| 6 » | 0,2571 | 0,0904 | 0,3475 | |
| 3 » | 0,3831 | 0,0280 | 0,4111 | Mit Wasser während 24 Stunden behandelt. |
| 6 » | 0,3955 | 0 | 0,3955 | |
| | | Ohne Keimung. | | |
| | 0 | 0,4213 | 0,4213 | Mit 0,3% Salzsäure behandelt. |
| | 0,2395 | 0,1974 | 0,4369 | Mit Wasser während 24 Stunden behandelt. |

In Samen, welche nach der Keimung für eine bestimmte Zeit in Berührung mit Wasser geblieben sind, entsteht eine grössere Menge ungepaarter Schwefelsäure als in anderen, welche, ohne gekeimt zu haben, gleich behandelt werden. Doch nach der Keimung zeigt sich die Wirkung des Ferments als eine fortdauernde, so lange noch unzersetztes Glykosid vorhanden ist.

Prof. Baumann's Laboratorium in Freiburg i. B.

# Zur Biologie der normalen Milchkothbacterien.

Von

**Dr. Adolf Baginsky.**

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 9. April 1888.)

Die bacteriologische, nach den modernen und exacten Koch'schen Züchtungsmethoden gewonnene Kenntniss der in normalen Milchfäces der Kinder vorkommenden Microorganismen ist durch Escherich's[1]) werthvolle Untersuchungen geschaffen worden. Es ist Escherich so wenig wie früheren Untersuchern entgangen, dass in den normalen Milchfäces eine grosse Reihe verschiedener Bacterienformen vorkommen; es gelang ihm, von diesen, als constante und stets wiederkehrende Formen, zwei zu isoliren, die er unter der Rubrik der obligaten Milchkothbacterien mit den Namen Bacterium lactis aërogenes und B. coli commune belegte.

Die biologisch-chemischen Untersuchungen, welche mit diesen beiden Microorganismen ausgeführt wurden, führten im Wesentlichen zu dem Ergebniss, dass B. lactis aërogenes (unter Gasbildung) eine ausgiebige Spaltung des Zuckers bei geringerem Eiweissconsum zukommt, während B. coli commune weder auf den einen noch auf den andern Nährstoff besondere Einwirkung zeigte. Beide Bacterienarten bringen, das erstere rascher und intensiver, das letztere langsamer und

---

[1]) Escherich, Die Darmbacterien des Säuglings. Stuttgart 1886, bei Ferdinand Enke.

mit nicht so massigem Niederschlage, die steril gemachte Kuhmilch unter Säurebildung zur Gerinnung. Die von B. lactis gelieferte Säure wird als Milchsäure angesprochen, so dass das Bacterium auch den Namen des Milchsäurebacillus oder Darmmilchsäurebacillus erhält.

Schon seit längeren Jahren mit den pathologischen Processen im kindlichen Darmtractus beschäftigt, schien es mir von Wichtigkeit, einmal die bacteriologischen Untersuchungen Escherich's nachzuprüfen, vor Allem aber die von ihm aufgedeckten biologisch-chemischen Wirkungen der genannten Bacterien zu untersuchen, in der Hoffnung dabei auch über gewisse pathologische Vorgänge, welche in dem kindlichen Darmtractus ablaufen, Aufklärung zu erhalten.

Die nachfolgenden Untersuchungen sind derart angestellt, dass zunächst aus normalen, und unter aseptischen Cautelen aus dem Darm von Brustkindern entnommene Fäces nach Koch'scher Methode Plattenculturen angelegt, von den Platten die Bacterien in Reinculturen auf Fleischpeptongelatine, Agar-Agar, Kartoffeln gezüchtet wurden und dass diese so gewonnenen reincultivirten Bacterien zur biologisch-chemischen Untersuchung genommen wurden.

Bringt man eine geringe Menge von normalem Milchkoth in Fleischpeptongelatine, unter Anwendung der üblichen Verdünnungen auf die Glasplatten, so ist folgende sich in jedem Falle wiederholende Beobachtung zu machen. Während die Platten zweiter, dritter u. s. w. Verdünnung ausschliesslich festlassende Colonien zeigen, beobachtet man auf der ersten Platte eine überaus rasche, oft und augenscheinlich von kleinsten Kothpartikelchen ausgehende, doch auch sonst sich bemerklich machende Verflüssigung der Gelatineplatte. Es kann sich hierbei, wie die anderen Platten erweisen, nicht um eine von wachsenden Bacteriencolonien ausgehende Wirkung handeln, vielmehr kommt die Wirkung eines ungeformten Fermentes zur Geltung, welche in den hochpotenzirten Verdünnungen der anderen Platten zum Verschwinden gebracht

ist. v. Jaksch[1]) hat erst kürzlich darauf hingewiesen, dass sich in den Fäces von Kindern ein saccharificirendes Ferment vorfindet, und es als zweifelhaft hingestellt, woher dasselbe stamme; da es sich bei der Verflüssigung der Fleischpeptongelatine augenscheinlich um ein peptonbildendes (eiweisslösendes) Ferment handelt, welches bei alkalischer Reaction in Wirksamkeit tritt, so liegt nichts näher, als beiden Fermentarten diejenige Quelle zuzuweisen, von welcher dieselben bekanntermassen gemeinschaftlich fliessen, d. i. das Pancreas; augenscheinlich hat man es mit Resten des den Fäces beigemischten Pancreassaftes zu thun.

Auf den anderen Platten wachsen, wie erwähnt, ausschliesslich festwachsende Colonien, in einzelnen Fällen ausschliesslich von ein und derselben Bacterienart, wie wenn eine Reincultur ausgesäet worden wäre, in anderen findet man neben mehr zufälligen oder seltener wiederkehrenden Formen vorzugsweise die von Escherich beschriebenen, als obligate Milchkothbacterien bezeichneten Formen neben einander, welche bei erlangter Uebung und Kenntniss durchaus unschwer von einander zu trennen sind. Es können des Weiteren die bacteriologischen Befunde hier übergangen werden, da ich in einer späteren bacteriologischen Arbeit auf dieselben zurückzukommen beabsichtige, soweit aber die zwei hier in Rede stehenden Bacterienformen in Frage kommen, im Wesentlichen nur die von Escherich angeführten Thatsachen bestätigt werden können; nur das mag erwähnt sein, dass bei der ausserordentlichen Aehnlichkeit der beiden Bacterienarten in ihrem Verhalten in Gelatine- und Agarculturen gerade die Kartoffelculturen sehr geeignet sind, die beiden Formen von Microorganismen auseinander zu halten.

Die nachfolgenden Untersuchungen beschäftigen sich nur ausschliesslich mit dem als B. lactis aërogenes oder Darmmilchsäurebacillus bezeichneten Microorganismus, während ich mir vorbehalte, die über B. coli eingeleiteten Untersuchungen später mitzutheilen.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, S. 118 ff.

Der allgemeine Gang der Untersuchungen war folgender. Aus den gewonnenen Reinculturen, in der Regel von der Gelatinecultur aus dem Reagensglas, aber auch wohl von Agar-Agar- und von Kartoffelculturen wurde auf die, in vorher steril gemachten Kolben gefüllten, durch 3 Tage hinter einander je $^1/_2$—1 Stunde im Wasserdampfstrom sterilisirten Nährlösungen geimpft. Die Gährung wurde bei 35—37° C. eine gewisse, angemessene, je nach dem Versuch variirte Zeit unterhalten. Vor der Untersuchung der gelieferten Gährungsproducte wurde jedes Mal ohne Ausnahme durch Gelatineplattencultur das Reingebliebensein der Gährculturen geprüft und selbstverständlich irgend verunreinigte oder auch nur verdächtige Versuche verworfen. Da mir bei dieser Studie practische Ziele vor Augen standen, so sind als Nährmedien vorzugsweise solche Substanzen verwendet worden, welche bei der Kinderernährung eine Rolle spielen; auch sind, wie man in dem Folgenden finden wird, die Versuchsbedingungen mit Rücksicht auf die im lebenden Darmkanal des Kindes vorhandenen, uns bekannten Verhältnisse variirt worden, um so einen möglichst klaren Einblick in die Wirkungen zu erhalten, welche das Bacterium bei der Verdauung im kindlichen Darmtractus auszuüben vermag.

### I. Wirkung des B. lactis (Escherich) auf Milchzucker.

1. 5 gr. Milchzucker wurden in einem vorher bei 140° C. sterilisirten Kölbchen in 50 cbcm. steril gemachten destillirten Wasser gelöst, eine geringe Menge Pepton hinzugethan und das Ganze unter Watteverschluss im Dampfstrom in 3 auf einander folgenden Tagen je $^1/_2$—1 Stunde sterilisirt. Die Zuckerlösung nimmt hierbei eine braune Farbe an.

Am 3. Tage mit B. lactis geimpft und in den auf 37° C. gehaltenen Brütofen gebracht.

Am folgenden Tage schon ist die Flüssigkeit trüb, zahlreiche Gasblasen auf derselben. Die Trübung bleibt in den folgenden 4 Tagen bestehen, während die Gasentwicklung aufzuhören scheint.

Am 5. Tage zur Untersuchung genommen. Die Reaction ist sauer, u. z. entspricht die Säure in den 50 cbcm. Flüssigkeit = 1,7 cbcm. Normalnatronlauge. Die Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure versetzt, mit Aether ausgeschüttelt. Der Aether abdestillirt, der Rückstand mit Zinkoxyd in Wasser gekocht, filtrirt, eingedampft, zur Krystallisation hingestellt. Es scheiden sich keine Krystalle von milchsaurem Zinkoxyd aus, indess giebt der glasige, auf dem Uhrglas befindliche Rückstand mit Eisenchlorid und Phenol die zeisiggelbe Reaction, welche der Milchsäure zugeschrieben wird. Jedenfalls ist die Menge der gebildeten Milchsäure nur ganz unbedeutend.

2. Dieselbe Versuchsanordnung. (5 gr. Milchzucker : 50 Ag.) Untersuchung der Nährlösung am 6. Gährungstage.

4,4 cbcm. Normal-Natronlauge entsprechen der Acidität von 50 cbcm. Nährlösung.

Die Gährflüssigkeit wurde neutral der Destillation unterworfen. Im Destillat erhält man mit Jodjodkalium und Natronlauge einen gelben, nach Jodoform riechenden Niederschlag, der in Aether aufgenommen nach Abdunsten des Aethers deutlich die Krystallisationsform des Jodoform zeigt.

Der Versuch mit Nitroprussidnatron und Natronlauge, die Acetonreaction zu erhalten, glückt nicht, auch löst das Destillat kein frisch gefülltes Quecksilberoxyd. Die gebildete, in das Destillat übergegangene Substanz ist jedenfalls kein Aceton; der Versuch, durch die Benzoylchloridreaction Aethylalkohol nachzuweisen, fällt indess ebenfalls nicht sicher aus. Die gebildete Menge ist im Ganzen sehr gering.

Der nach der Destillation verbliebene Rest wurde wieder mit Schwefelsäure angesäuert und der Versuch gemacht, das Zinksalz etwa gebildeter Milchsäure darzustellen, mit etwas besserem Resultat, wie in dem ersten Versuch; es wurden einige Krystalle gewonnen, die mikroskopisch als milchsaures Zink angesprochen werden müssen, indess ist ihre Menge ganz unbedeutend; jedenfalls ist auch dieses Mal nur sehr wenig Milchsäure gebildet worden.

3. Dieselbe Versuchsanordnung in 2 Kölbchen. Zur Untersuchung genommen am 20. Tage der Gährung. Die Plattenculturen, welche zur Prüfung der Reincultur angelegt werden, bleiben steril. Die Bacterien sind also während des Versuches abgestorben. Die Aciditätsbestimmung ergiebt:

in Kölbchen 1. 2,2 cbcm. Normal-Natronlauge = 50 cbcm. Gährflüssigkeit,

in Kölbchen 2. 2,1 cbcm. Normal-Natronlauge = 50 cbcm. Gährflüssigkeit.

Bei der Destillation der neutral gemachten Gährflüssigkeit giebt das Destillat folgende Reactionen:

Mit Jodjodkalilösung und Natronlauge wird Jodoform gebildet. (Lieben's Reaction.)

Mit frisch gelöstem Nitroprussidnatron und einer geringen Menge Natronlauge entsteht eine rothe Farbe, die rasch sich in gelbbräunliche wandelt, durch Zusatz von Essigsäure indess für einen Augenblick wieder herzustellen ist. (Probe von Legal auf Aceton.)

Frisch gefälltes Quecksilberoxyd wird von dem Destillat gelöst und ist in der Lösung durch Schwefelammonium nachweisbar. (Probe von Reynold.)

Alle diese Reactionen stimmen für die Eigenschaften des Aceton und beweisen die Anwesenheit wenigstens geringer Mengen dieses Körpers.

In dem auf 200 cbcm. gebrachten Rückstand nach beendetem Destillat aus beiden Kölbchen wurde die noch vorhandene Zuckermenge durch Titriren mit Fehling'scher Lösung bestimmt. Es wurde gefunden Zucker = 2,18, was, da 10 gr. Zucker zur Gährung gebracht worden sind, 7,82 gr. Verlust durch Gährung oder 78,2 % entsprechen würde.

Nach der Zuckerbestimmung wurde der Rest der Flüssigkeit wieder in der schon angegebenen Weise auf Milchsäure untersucht. Es gelang nicht, Krystalle von milchsaurem Zink zu erhalten. Auf dem Uhrglase verblieb eine geringe Menge

einer glasigen, bräunlichen Substanz, welche mit Phenol-Eisenchlorid eine gelbe Farbe gab, die auf Milchsäure hinweist, indess ist die gebildete Menge sehr unbedeutend.

Aus den bisher mitgetheilten Versuchen geht hervor, dass das Gährungsvermögen des B. lactis auf Milchzucker ein sehr beträchtliches und intensives ist. Die Vergährung erfolgt unter Bildung von einer Substanz, welche die Acetonreaction giebt, und unter Bildung von Säure, die sich bei dem Versuche der Darstellung des Zinksalzes nur zum geringsten Theile als aus Milchsäure bestehend herausstellte. Höchst bemerkenswerth ist das Absterben der Bacterien in den Nährlösungen, wenn die Gährung über eine gewisse Zeit hinaus unterhalten wird; diese Thatsache wird uns später noch zu beschäftigen haben.

Es war unter solchen Verhältnissen angezeigt, der Ermittelung der gebildeten Säure nachzugehen. Die folgenden Versuche, welche in dieser Absicht unternommen wurden, sind deshalb mit grösseren Mengen von Nährflüssigkeit angestellt. Wiewohl die bisher benutzte Nährflüssigkeit dem B. lactis augenscheinlich zuträglich war, so wurde doch, um ein möglichst gutes Gedeihen der Microorganismen zu erzielen, zu den vorzugsweise von Fitz[1]) erprobten, für die Bacteriengährung als erspriesslich gefundenen Nährsalzen zurückgegriffen und diese der, der Vergährung zu unterwerfenden Substanz hinzugesetzt; auch wurde der bisher schon angegebene, im Wesentlichen von Fitz benutzte Gang der Untersuchung festgehalten.

### Bestimmung der bei Vergährung des Milchzuckers durch B. lactis (Escherich) gebildeten Säure.

4. 36 gr. Milchzucker wurden in 750 gr. Aq. gelöst,

| | | | |
|---|---|---|---|
| dazu | Pepton siccum | 8 | gr., |
| | Dikaliumphosphat | 1,60 | » |
| | Calciumchlorid | 0,15 | » |
| | Schwefels. Magnesia | 0,3 | » |

1) Fitz, Berichte der deutsch. chemisch. Gesellschaft, Bd. 9 ff.

und eine entsprechende Menge Calciumcarbonat. Das Ganze wurde gut umgeschüttelt in 8 bei 140° C. vorher sterilisirten Erlenmeyer'schen Kölbchen vertheilt und unter Watteverschluss in 3 auf einander folgenden Tagen je 1 Stunde im Wasserdampfstrom sterilisirt, wobei starke Bräunung der Nährlösung eintrat. Es wurden nun die Kölbchen mit B. lactis geimpft und bei 37° C. in den Brütofen gebracht.

Schon am folgenden Tage erscheint die Nährlösung in allen Kölbchen trüb und ziemlich reichlich Gasblasen auf der Oberfläche. Die Gährung wurde 9 Tage unterhalten. Am 10. Tage wurden aus den Kölbchen Plattenculturen so angelegt, dass die 3. Verdünnung je auf 1 Platte gebracht wurde. Dieselben ergaben in der Folge, dass durchaus Reinculturen von B. lactis in den Kölbchen vorhanden waren. Die Flüssigkeit wurde aus allen Kölbchen von dem Kalksalz abgegossen, in einen gemeinschaftlichen Kolben gebracht; das Kalksalz mit heissem Wasser übergossen, aufgekocht, filtrirt und das Filtrat ebenfalls in den gemeinschaftlichen Kolben gebracht. Die so gesammelte Flüssigkeit wurde mit Hilfe des Dampfstromes destillirt.

Es gehen in das Destillat geringe Mengen einer die Jodoformreaction gebenden Substanz über; bei nochmaligem Destillat gelingt es wohl, die Substanz soweit zu erhalten, als die Jodoformreaction deutlicher wird, indess ist die im Ganzen gewonnene Menge zu unbedeutend, um weitere Proben damit anzustellen. Es sind, wenn Alkohol und Aceton gebildet worden sind, jedenfalls nur ganz unbedeutende Mengen davon vorhanden.

Der Rest, welcher nach der ersten Destillation zurückgeblieben war, wurde mit HCl angesäuert, nunmehr lange Zeit und unter 5 Mal erneutem Aufgiessen von Wasser mittelst des Dampfstromes destillirt. Es gelingt aber trotz tagelanger Destillation nicht, ein ganz säurefreies Destillat zu gewinnen, also die ganze Menge der gebildeten Säure zu erhalten. Durch Prüfungen mit Silbernitrat wurde von Zeit zu Zeit festgestellt, dass in das Destillat nicht HCl mit übergerissen wurde.

Das gewonnene Destillat wurde mit Barytlösung schwach alkalisch gemacht, auf dem Wasserbade bis auf etwa $^1/_3$ eingedampft, der überschüssige Baryt mittelst Kohlensäure entfernt; filtrirt, weiter eingedampft und erneut gebildete Häutchen von kohlensaurem Baryt durch Filtriren entfernt, und so schliesslich das Barytsalz der gebildeten Säure gewonnen. Es wurden so im Ganzen 1,8105 des Barytsalzes gewonnen, was indess aus dem oben angegebenen Grunde noch keineswegs die ganze Menge der gebildeten Säure darstellt.

| | | |
|---|---|---|
| Zur Barytbestimmung genommen . . | 0,5835. | |
| Als $Ba.CO_3$ gefunden . . . . . = | 0,4422 = | 52,68 % Ba. |
| Essigsäure verlangt . . . . . . . . . | | 53,72 % Ba. |

Es war damit schon wahrscheinlich, dass die gebildete Säure zum grössten Theile Essigsäure war.

Eine Controlanalyse ergab aus:

0,2624 des Barytsalzes = 0,1988 $Ba.CO_3$, also wieder 52,68 % Ba.

Nach möglichster Entfernung der in das Destillat übergehenden Säure, die aber, wie angegeben, nicht völlig gelang, so lange man auch destillirte, wurde der Rest in folgender Weise zur Untersuchung auf Milchsäure verwendet. Derselbe wurde mit Soda alkalisch gemacht, ein sich bildender Niederschlag abfiltrirt, das Filtrat eingedampft, auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht und der Rückstand mit absolutem Alkohol längere Zeit hindurch und mehrfach in kleinen Portionen extrahirt. Der Alkohol wurde durch Abdampfen entfernt, der Rückstand in Wasser aufgenommen, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether vielfach ausgeschüttelt. Aus dem Aetherauszug wurde nach dem Entfernen des Aethers versucht, das milchsaure Zinksalz darzustellen. Hierbei wurden nur ganz geringe Mengen von als milchsaures Zinkoxyd anzusprechenden Krystallen, deren Krystallform zumeist die, länglicher, abgestumpfter, in der Mitte ein wenig ausgebuchteter Säulchen darbot, gewonnen. Jedenfalls war die Menge des gewonnenen milchsauren Salzes sehr gering und die gebildete Milchsäure verschwindend klein

gegenüber der grossen Menge der als Essigsäure anzusprechenden Säure.

5. Der Versuch wurde in der gleichen Weise wiederholt. Es wurden dieselben Mengen in der Nährlösung verwendet und in 10 kleinen Erlenmeyer'schen, vorher sorgfältig sterilisirten Kölbchen mittelst B. lactis zur Gährung gebracht. Die Gährung wurde 17 Tage unterhalten, indess mussten 4 Kölbchen, weil die Cultur durch einen Schimmelpilz verunreinigt war, verworfen werden. 6 Kölbchen waren rein geblieben und zur Untersuchung genommen.

Das erste Destillat aus der zusammengethanen Nährflüssigkeit ergab genau, wie in dem ersten Falle, die oben beschriebenen, dem Aceton zugehörigen Reactionen mit aller Schärfe; bei wiederholter Destillation des ersten Destillats wurde allerdings nur so wenig von dem als Aceton angesprochenen Körper gewonnen, dass eine weitere Untersuchung als die Anstellung der beschriebenen Proben nicht möglich war.

Nach dem Ansäuern wurden durch lange fortgesetztes Destilliren 4,2638 gr. des Barytsalzes gewonnen.

0,7657 wurden zur Bariumbestimmung genommen und ergaben . . . 0,5895 $Ba.CO_3$ = 53,53 % Ba.
Essigsäure verlangt. . . . . . . . . . . 53,72 % Ba.

Nach dem oben beschriebenen Gange der weiteren Untersuchung wurden auch hier wieder nur geringe Mengen, durch die Krystallform wohl charakterisirten milchsauren Zinkoxyds gewonnen.

Nach Allem war somit höchst wahrscheinlich geworden, dass die Hauptmasse der aus der Gährung des Milchzuckers von B. lactis gebildeten Substanz aus Essigsäure bestand. Es wurden, um vielleicht durch wiederholte Destillation der gewonnenen Substanz zu noch besser übereinstimmenden Zahlen zu gelangen, die aus Versuch 4 und 5 übrig gebliebenen Mengen gelöst, das Barytsalz durch Schwefelsäure zerlegt, der schwefelsaure Baryt abfiltrirt und das saure Filtrat neuerdings der Destillation unterworfen.

Aus dem Destillat wurde neuerdings das Barytsalz dargestellt. Von diesem ergaben:

$$0{,}689 = 0{,}526 \text{ Ba.CO}_3 = 0{,}36578 \text{ Ba} = 53{,}08\,\%.$$

Das so gewonnene gereinigte Salz zeigte überdies folgende Eigenschaften:

Mit Eisenchlorid gab eine in Wasser gelöste Probe eine dunkelrothbraune Farbe. Unter Zusatz von Alkohol und concentrirter Schwefelsäure entstand beim Erwärmen ein sehr deutlicher Geruch von Essigäther. Mit $Ag.NO_3$ entstand eine Trübung, die beim Erhitzen sich löste und beim Erkalten ein in feinen Nadeln sich ausscheidendes krystallinisches Silbersalz erkennen liess.

Nach den vorliegenden Zahlen und dem Verhalten gegen Reagentien kann kein Zweifel vorhanden sein, dass die Hauptmasse der bei der Gährung gebildeten Säure Essigsäure war; Milchsäure war nur in geringen Mengen entstanden.

### Gährversuche ohne Sauerstoffzutritt.

Die bisherigen Versuche waren stets unter einfachem Watteverschluss der Gefässe angestellt, der Zutritt der atmosphärischen Luft demnach frei. Da es darauf ankam, festzustellen, welche Wirkung das aus den Milchfäces von Kindern gezüchtete Bacterium im Darmkanal selbst auf die dargebotene Nahrung ausübte, und alle Erfahrungen darauf[1]) hinweisen, dass im Darmkanal freier Sauerstoff überhaupt nicht vorhanden ist, so mussten die weiteren Versuche dahin abgeändert werden, dass der Zutritt von Sauerstoff zur Nährlösung vollkommen abgeschnitten wurde. Dies wurde in folgender Weise erreicht.

6. Ein grosser Kolben wurde mit einem fest und luftdicht schliessenden, doppelt durchbohrten Gummistopfen versehen, in beide Durchbohrungen ebenso luftdicht anschliessende Glasröhren eingesetzt, von denen das eine, welches bis nahe-

---

1) Siehe die Auseinandersetzung darüber bei Escherich, l. c., S. 137 ff.; Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, S. 330 ff.

zu an den Boden des Gefässes reichte, oben doppelt U-förmig abgebogen und in dem aufsteigenden Schenkel der Biegung zu einer Kugel ausgeblasen war, das andere Glasrohr, welches nur bis unter die Fläche des Gummistopfens reichte, war am unteren Ende einfach U-förmig abgebogen und zu einer feinen Spitze ausgezogen. Die beschriebene kugelförmige Partie des ersten Rohres wurde mit Watte versehen und ein luftdicht anschliessendes Gummirohr aufgezogen, welches mit einem Quetschhahn luftdicht zu Verschluss gebracht werden konnte. Das zweite Rohr wurde in der Umbiegung mit einer kleinen Menge Quecksilber beschickt und auf die fein ausgezogene Spitze noch zum völlig sicheren Luftabschluss ein Bunsensches Kautschukventil aufgesetzt, um ein Zurückströmen von Luft zu verhindern. Bevor der Apparat zur Benutzung genommen wurde, wurden die Glasbestandtheile sammt der in die Kugel eingebrachten Watte bei 140° C. sterilisirt, alle Gummibestandtheile aber vorher ausgekocht.

Es wurde nun die aus dem Vorigen schon bekannte Nährlösung in das steril gemachte Gefäss eingebracht, in das zweite Rohr ein wenig Quecksilber eingeführt und der völlige Luftabschluss des Gefässes geprüft. Der so beschickte Kolben wurde mit der Nährlösung in 3 auf einander folgenden Tagen im Kochschen Dampfsterilisirungsapparat je 1 Stunde sterilisirt, wobei sich, wie immer, starke Bräunung der Nährflüssigkeit einstellte. Die so steril gemachte Nährflüssigkeit wurde bei rascher Oeffnung des Gummistopfens mit B. lactis geimpft, der Kolben wird luftdicht geschlossen und nunmehr durch das erste Rohr ein starker H-Strom, welcher vorher durch ein sterilisirtes, destillirtes Wasser geleitet wurde, um etwaige mitgerissene Spuren von Schwefelsäure zu entfernen, durch die Flüssigkeit so lange hindurchgeleitet, bis der Kolben vollständig mit H erfüllt war. Der Kolben wurde jetzt bei 37° C. in den Brütofen gebracht. Schon am folgenden Tage leichte Trübung der Nährflüssigkeit, die sich alsbald steigerte, während geringe Spuren von Gasblasen an der Oberfläche der Nährflüssigkeit erschienen. Weitere Veränderungen wurden in der Folge nicht beobachtet. Die Gährung wurde 20 Tage hindurch unterhalten.

Am 20. Tage wurde der Kolben geöffnet, Plattenculturen wurden angelegt, die in der Folge die Reinheit der Cultur erwiesen, die Flüssigkeit wurde abgegossen und der Destillation unterworfen. Die ersten Tropfen des Destillats gaben in wenig ausgiebiger Weise mit Jodjodkaliumlösung und Natronlauge Jodoform; zu weiteren Proben war kein Anlass vorhanden, da diese Reaction schon bei der nächsten Probe versagte. Es war also die die Jodoformprobe gebende Substanz nur in ganz geringer Menge gebildet worden. Des Weiteren wurde das Kalksalz der Nährflüssigkeit durch nochmaliges Aufkochen mit Wasser aufgenommen und zu der der ersten Destillation unterworfenen Flüssigkeit hinzugefügt, jetzt mit HCl angesäuert und destillirt, und das Barytsalz der übergehenden Säure dargestellt. Es wurden nach mehrtägigem Destilliren 5,323 des Barytsalzes gewonnen. Von demselben gaben:

0,6638 = 0,5025 $Ba.CO_3$ = 0,3494385 Ba = 52,64 % Ba.
Essigsäure verlangt . . . . . . . . . . 53,72 % Ba.

Da die Reactionen mit Eisenchlorid, mit Alkohol und conc. Schwefelsäure durchaus dem Verhalten der Essigsäure entsprachen, mit $Ag.NO_3$ das in feinen Nadeln in der Kälte auskrystallisirende Silbersalz darzustellen war, so kann kein Zweifel vorhanden sein, dass wieder Essigsäure in der Hauptsache bei dem Gährungsprocesse gebildet worden war.

Nach Milchsäure wurde in dem Rückstande des Destillats nicht gesucht.

## Ausschluss von Sauerstoff und Zusatz von Galle bei dem Gährungsversuch.

War somit festgestellt, dass auch unter Ausschluss des Sauerstoffs das Bacterium — welches übrigens auf den Platten in ausserordentlich reichlichen Culturen aufschoss, somit sehr gut und reichlich in der Anaërobiose gewachsen war — Essigsäure bildete, so war es weiterhin von Interesse, zu prüfen, welche Producte geliefert wurden, wenn die in dem Darmkanal vorhandenen Secrete oder wenigstens eins der wichtigsten derselben, die Gallenbestandtheile, gleichzeitig mit dem

Sauerstoffmangel zur Geltung kommen. In Ermangelung einer ausreichenden Menge von Galle aus kindlichen Cadavern wurde Kälbergalle verwendet.

7. Etwa 20 cbcm. Galle wurde in einem Erlenmeyerschen Kölbchen durch 5 Tage je 5 Stunden im Wasserdampfstrom sterilisirt und durch vorherige Prüfung auf Gelatine und Agar-Agar als steril befunden. Die Versuchsanordnung blieb des Weiteren durchaus wie bei 6. Die Gährung wurde 26 Tage lang bei 37° C. im Brütofen unterhalten. Nach Feststellung der erhaltenen Reincultur wurde die Gährflüssigkeit zur Untersuchung genommen.

Mit dem ersten Destillat konnten wieder die oben beschriebenen, dem Aceton zugehörigen Reactionen gewonnen werden, indess war auch hier die nachweisliche Menge nur so gering, dass dieselbe eben für die Reactionen ausreichte.

Nach Darstellung des Barytsalzes durch Destillation aus dem sauer gemachten Rückstande des ersten Destillats wurden folgende Zahlen bei Bestimmung des Bariumgehalts gewonnen:

Zur Untersuchung genommen . . 0,0488.
Dieselben ergaben 0,8028 Ba . $CO_3$ = 0,558267 Ba = 53,22 % Ba.
Essigsäure verlangt . . . . . . . . . . . . 53,72 % Ba.

Die mit dem Barytsalz vorgenommenen Proben stimmten durchaus mit dem Verhalten der essigsauren Verbindung.

Von Milchsäure wurden als Zinksalz weiterhin nur ganz geringe Mengen gefunden.

Die Gallenbeimischung hatte also in dem Vorgange der Zuckergährung unter Ausschluss des Sauerstoffs keinerlei Aenderung hervorgerufen, und es ist sonach mit grosser Wahrscheinlichkeit dargethan, dass auch in dem Darmkanal der Milchzucker unter dem Einflusse von B. lactis zum grössten Theile zu Essigsäure vergohren wird.

Die die Essigsäure stets begleitenden geringen Mengen von Milchsäure lassen es als nothwendig erscheinen, die Einwirkung des Bacterium lactis auf neutrale milchsaure Salze direct zu prüfen. Die Vorstellung war ja möglich, dass die Essigsäure erst als ein späteres Product der Gährung auftrat und aus der ursprünglichen Milchsäuregährung hervorgeht.

Um dies zu entscheiden, wurde folgender Versuch angestellt.

8. 10 gr. neutrales milchsaures Natron wurde in 1000 Aq. eingebracht.

An Nährsalzen geringere Quantitäten, als bisher genommen worden waren.

| | |
|---|---|
| Pepton | 2,5 |
| Dikaliumphosphat | 0,1 |
| Calciumchlorid | 0,02 |
| Schwefels. Magnesia | 0,02 |

und eine entsprechende Menge Calciumcarbonat. Das Ganze wurde in der üblichen Weise 3 Tage nach einander in einem Kolben sterilisirt und mit B. lactis geimpft. Die Gährung wurde 14 Tage bei 37° C. unterhalten, ohne dass anscheinend mit der Nährlösung wesentliche Veränderungen, als etwa eine geringe Trübung, vorgegangen wären. Die nach unterbrochener Gährung aus dem Kolben dargestellten Gelatineplatten zeigten, dass ein sehr üppiges Wachsthum des rein gebliebenen B. lactis stattgefunden hatte.

Das erste Destillat der Gährflüssigkeit ergab nur geringen und langsam entstehenden Jodoformniederschlag bei Zusatz von Jodjodkalium und Natronlauge. Zu weiteren Proben reichte die gering gewonnene Menge überhaupt nicht aus. Die aus dem, mit Salzsäure sauer gemachten Rückstand durch Destillation gewonnene Säure wurde in das Barytsalz verwandelt und darin die Ba-Bestimmung gemacht. Dieselbe ergab Folgendes:

0,4622 des Barytsalzes ergaben an $Ba.CO_3$ = 0,2954
= 0,20542116 Ba . . . . . . . . . . . = 44,44 % Ba.
Buttersäure verlangt . . . . . . . . . . . 48,703 % Ba.

Es ist damit höchst wahrscheinlich gemacht, dass die aus der Gährung des milchsauren Salzes hervorgegangene Substanz zum grössten Theile aus Buttersäure bestand.

Auffällig war, dass beim Destilliren der mit HCl sauer gemachten Gährflüssigkeit die kochende Flüssigkeit eine sehr schöne Orangefarbe annahm, welche erst nach langem Kochen wieder verschwand. Es ist nach diesem Versuche nicht

wahrscheinlich gemacht, dass die Essigsäurebildung, welche durch Einwirkung von B. lactis auf Milchzucker statt hat, von Hause aus mit einer reichlichen Bildung von Milchsäure einhergeht, vielmehr scheint die Essigsäure direct bei der Vergährung des Milchzuckers zu entstehen.

### II. Wirkung des B. lactis (Escherich) auf Amylum.

1. 20 gr. zuckerfreies Amylum wurden mit 400 cbcm. Aq. zu Stärkekleister gekocht und je 50 cbcm. des Kleisters in ein vorher bei 140° C. sterilisirtes Erlenmeyer'sches Kölbchen eingebracht. So wurden 7 Kölbchen beschickt. In 3 derselben wurde überdies je 1,0 gr. Pepton sicc. eingebracht. In 2 anderen wurde dem Kleister je 10 cbcm. einer aus

schwefelsaurem Ammoniak 1 }
phosphorsaurem Kali 1 } 100 Aq.

bereiteten Nährlösung hinzugefügt.

2 Kölbchen verblieben als Controle.

Die so beschickten Kölbchen wurden sämmtlich unter Watteverschluss in 3 auf einander folgenden Tagen je 1 Stunde im Wasserdampfstrom sterilisirt. Nach der Sterilisation wurden den beiden Controlkölbchen Proben des Kleisters entnommen und mit Fehling'scher Lösung auf Zuckergehalt geprüft. Es war unter dem Einfluss der Sterilisation kein Zucker aus dem Amylum gebildet worden. Die 3 ersten und die 2 anderen Kölbchen wurden jetzt mit B. lactis geimpft. Die 2 letzten blieben ungeimpft und steril. Sämmtliche Kölbchen wurden bei 37° C. in den Brütofen gebracht.

Am 4. Tage ist in keinem der Kölbchen an entnommener Probe mittelst Fehling'scher Lösung Zucker nachweisbar. Die Reaction in den ersten beiden Gruppen von Kölbchen ist sauer, die Reaction in den steril gelassenen Kölbchen neutral.

Es hat also in den beiden Gruppen der mit B. lactis geimpften Kölbchen keine Zuckerbildung aus Amylum stattgefunden, aber eine freie Säure ist nachweisbar geworden.

Nach weiteren 4 Tagen ist der Befund genau der gleiche, und ebenso nach weiteren 14 Tagen. Es wurde nun aus den ersten beiden Gruppen (5 Kölbchen) die gebildete Säure untersucht.

Es ergaben 0,1144 des Barytsalzes = 0,0890 $Ba.CO_3$
= 0,0618906 Ba . . . . . . . . . . . = 54,1 % Ba.
Essigsäure verlangt . . . . . . . . . . . 53,72 % Ba.

Es ist sonach zum grössten Theile wieder Essigsäure gebildet worden, die überdies durch das Verhalten gegen Eisenchlorid und salpetersaures Silber sich ganz deutlich und in vollkommen charakteristischer Weise zu erkennen giebt.

Bemerkenswerth ist nach diesem Versuche die Bildung der Essigsäure aus Amylum, ohne dass es gelang, eine zuckerbildende Wirkung des B. lactis nachzuweisen. Gelegentlich seiner Versuche über B. subtilis giebt Fitz[1]) an, dass dieses Bacterium im Stande ist, sehr energisch aus Stärke Buttersäure zu bilden; er will deshalb dieses Bacterium sogar zur Darstellung der Buttersäure aus Amylum verwendet wissen. Die Wirkung des B. lactis ist, wie man erkennt, eine andere, und dieser Unterschied in dem biologischen Verhalten der beiden Bacterienformen ist nicht der einzige, vielmehr vermag B. subtilis nicht, wie dies von B. lactis erkannt worden ist, neutrales milchsaures Salz in buttersaures überzuführen.

Es war des Weiteren von Interesse, die Wirkungsweise von B. lactis auf Amylum unter Einfluss des Sauerstoffmangels zu studiren.

2. Unter sonstiger Belassung der Versuchsanordnung, wie dieselbe oben für die Anaërobiose beschrieben wurde, wurden

| | |
|---|---|
| Amylum | 10 : 1000 Aq. |
| Phosphors. Kalium | 0,1 |
| Schwefels. Magnesia | 0,02 |
| Pepton | 5 |
| Calciumchlorid | 0,02 |

---

[1]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XI, S. 51.

entsprechende Menge von Calciumcarbonat mit den schon bekannten Cautelen mit B. lactis zur Gährung bei 37° C. in den Brütofen eingebracht. Es erfolgte sichtbar keine Veränderung innerhalb 10 Tagen, so dass am 10. Tage eine zweite Impfung mit B. lactis vorgenommen wurde. Auch diese blieb anscheinend ohne Einwirkung auf die Nährflüssigkeit. 5 Tage nach der zweiten Impfung wurden Plattenculturen angelegt, welche ergaben, dass die Cultur rein geblieben war und ein reichliches Wachsthum der Bacterien stattgehabt hatte; es waren auf den mit starken Verdünnungen geimpften Platten zahlreiche Colonien von B. lactis aufgegangen. Die Untersuchung der Nährflüssigkeit ergab Folgendes:

1. Zucker war nicht gebildet worden; die Probe mit Fehling'scher Lösung blieb erfolglos.

2. Die Reaction der Flüssigkeit war ganz schwach sauer.

3. In dem ohne Zusatz von HCl gewonnenen ersten Destillat bleibt die Lieben'sche Jodoformreaction völlig aus. Beim Destilliren mit HCl gehen in das Destillat nur ganz geringe Mengen einer Säure über, welche wohl die Reaction mit Eisenchlorid gestatten, und mit Wahrscheinlichkeit Essigsäure erkennen lassen. Die Menge des daraus gewonnenen Barytsalzes ist zu gering zu einer Ba-Bestimmung; dasselbe giebt indess mit $Ag.NO_3$ feine Nadeln des essigsauren Silbersalzes. Es ist also in ganz kleinen Mengen Essigsäure gebildet worden. Der Nachweis von Milchsäure gelang nicht sicher, wiewohl einzelne Krystalle des Zinksalzes, welche darzustellen versucht wurden, mit einiger Wahrscheinlichkeit als milchsaures Zinkoxyd angesprochen werden konnten. Es war also bei diesem, mit Ausschluss des Sauerstoffs durchgeführten Versuche die Gährung ganz unbedeutend, wenngleich ausreichendes Wachsthum der verimpften Bacterien stattgefunden hatte, und es scheint sonach, wie wenn das Bacterium nur unter dem Einfluss des Sauerstoffs eine Gährwirkung auf Amylum auszuüben vermöge, während dieselbe bei Entziehung des Sauerstoffs ausbleibt. Indess ist festzuhalten,

dass es weder in diesem noch in jenem Falle gelungen ist, durch Einwirkung von B. lactis auf Amylum Zucker zu erhalten.

### III. Einwirkung von B. lactis auf Casein und auf Milch.

Die Complicirtheit der Gährungsvorgänge in der Milch liess es wünschenswerth erscheinen, zunächst die Einwirkung des Bacterium auf Casein für sich allein zu studiren.

1. Von der Bolle'schen Molkerei in Berlin wurde ich in den Besitz eines fettfreien, harten und körnigen Caseins gesetzt, welchem allerdings noch reichlich Milchzucker anhaftete. Das Präparat wurde fein zermalen, mehrmals mit heissem Wasser ausgekocht und abgepresst. Es gelang aber hierbei dennoch nicht, den Zucker völlig zu entfernen. Von diesem Casein wurden je 20 gr. in ein vorher sterilisirtes Erlenmeyer'sches Kölbchen eingebracht und 8 Kölbchen beschickt. In 5 der Kölbchen wurde das Casein mit je 20 cbcm. einer Nährlösung befeuchtet, welche

0,2 Kaliumphosphat,
0,04 schwefels. Magnesia,
0,02 Calciumchlorid

enthielt. In 3 Kölbchen wurden je 20 cbcm. Aq. auf das Casein gebracht.

Die Kölbchen wurden sämmtlich im Koch'schen Sterilisationsapparat 3 Tage nach einander je 1 Stunde sterilisirt, wobei sich der Zuckergehalt des Casein durch starke Bräunung des Präparates zu erkennen gab.

3 mit Nährlösung befeuchtete Kölbchen und die 2 mit destillirtem Wasser befeuchteten wurden mit B. lactis geimpft. Die 2 anderen mit Nährlösung befeuchteten wurden steril gelassen zur Controle. Die Kölbchen wurden sämmtlich bei 37° C. in den Brütofen gebracht, wo sie 21 Tage verblieben. Es zeigte sich an dem Nährmaterial während dieser Zeit nicht die geringste Aenderung. Am 21. Tage wurden Impfungen auf Fleischpeptongelatine gemacht, — ohne Erfolg, die Röhrchen blieben steril. Die Bacterien waren während des Ver-

suches abgestorben. Die Reaction war indess intensiv sauer geworden, während die Controlkölbchen neutrale Reaction hatten. Die Kölbchen wurden jetzt neuerdings mit einem anderen, aus pathologischen Kinderfäces gezüchteten verflüssigenden Bacillus geimpft und 3 Tage bei 37° C. im Brütofen belassen. Nochmalige Impfung auf Gelatineröhrchen ergab, dass auch die neue Cultur nicht angegangen war, die Gelatineröhrchen blieben steril. Das Casein der geimpften und der Gährung ausgesetzten Kölbchen wurde mit heissem Wasser ausgezogen und die saure Lösung destillirt. Im Destillat war mit Millon's Reagens keine auf Phenol oder Kresole hinweisende Reaction nachweisbar; auch auf Zusatz von Bromwasser erfolgte keine Reaction. Irgend eine Art von Fäulnissgährung im engeren Sinne, hatte sonach nicht stattgefunden, vielmehr war die intensiv saure Reaction augenscheinlich durch Einwirkung des B. lactis auf den, dem Casein noch anhaftenden Milchzucker entstanden. Bemerkenswerth ist, worauf ich noch zurückkommen werde, das Absterben der Bacterien in der sauren Lösung, welche durch die eigene Gährwirkung geschaffen ist, und das Unvermögen des aus pathologischen Fäces gezüchteten, leicht zu cultivirenden, «weissen verflüssigenden Bacillus», auf dem sauer gewordenen Nährboden zu keimen.

Es wäre nach dem mit dem Casein erhaltenen negativen Resultat von grossem Werthe gewesen, die Einwirkung des Bacterium lactis auf die Eiweisskörper der Milch in ihren einzelnen Phasen studiren zu können; leider sind die dahin gerichteten Versuche nicht in völlig wünschenswerther Weise ausgefallen. Trotz meiner durch meine früheren Arbeiten auf diesem Gebiete gewonnenen practischen Erfahrungen[1]) gelang es mir nicht, in der durch langes und mehrfaches Erhitzen steril gemachten Milch, mittelst der Hoppe-Seyler'schen Methode der Bestimmung der Eiweisskörper, in mehrfachen Controlbestimmungen zu so einheitlichen und gleichmässigen

---

1) S. Verwendbarkeit der durch Einwirkung hoher Temperaturen dargestellten Milchconserven. Archiv f. Kinderheilk., Bd. 4.

Zahlen zu gelangen, dass es angezeigt gewesen wäre, diese für Vergleichsbestimmungen mit der der Gährung mittelst B. lactis unterworfenen Milch zu verwenden. Die Schwierigkeiten, die sich ergeben, sind um so grösser, als unter der Einwirkung des B. lactis die Milch sehr rasch zu einem dicken Klumpen gerinnt, so dass ungeronnene und durch die Gährung zur Gerinnung gebrachte Milch mit einander verglichen werden mussten. Unter solchen Verhältnissen begnügte ich mich damit, die Gesammteiweisskörper der Milch nach der Ritthausen'schen Methode mit Kupfersulfat zu fällen, den Ueberschuss des Kupfersulfats durch Natronlauge zu entfernen und in den so gewonnenen Kupferverbindungen den Stickstoffgehalt zu bestimmen, in der Hoffnung, auf diesem Wege zu Vergleichszahlen zu gelangen, welche für die Frage, in wie weit die Eiweisskörper der Milch von B. lactis angegriffen werden, eine gewisse Entscheidung bringen würden. Es wurde überdies in den der Gährung unterworfenen Milchproben nach den Producten der Eiweissfäulniss, Phenol, Kresole, Leucin und Tyrosin, gesucht.

Diese Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt:

2. In 2 vorher bei 140° C. steril gemachten Kölbchen wurden von derselben wohl durchgeschüttelten Milch je 50 cbcm. eingebracht. Die Milch wurde in beiden Kölbchen unter Watteverschluss in 3 auf einander folgenden Tagen je 1 Stunde im Wasserdampfstrom sterilisirt. Das eine der Kölbchen wurde mit B. lactis geimpft und das andere steril gelassen und beide in den auf 37° C. gehaltenen Brütofen eingebracht. Nach 10 Tagen wurde die Milch in den steril gehaltenen Kölbchen, welche unverändert und nicht geronnen war, sich bei einer Impfprobe auf Fleischpeptongelatine auch als steril erwies, mit der für die Ritthausen'sche Methode verwendeten Kupfersulfatlösung vollkommen ausgefällt und der Ueberschuss der Kupferlosung mittelst Natronlauge von der bekannten Concentration entfernt, filtrirt, der Kupferniederschlag getrocknet, gewogen und in einem Theile durch Verbrennung der N-Gehalt bestimmt. Es wurden gefunden

**8,31 %** N und daraus der N in 1 gr. der zur Untersuchung genommenen Milch auf = **0,00460** berechnet.

Aus dem der Gährung unterworfenen Kölbchen wurde die Gesammtmenge der geronnenen Milch mittelst Wasser sorgfältig ausgespült und nach möglichst feiner Vertheilung die Fällung mit Kupfersulfat vorgenommen. Der Kupferniederschlag wurde wie der erste behandelt und ergab einen Gehalt von 5,75 % N. Auf 1 gr. der vergohrenen Milch berechnet ergab dies einen N-Gehalt = **0,00446.**

Das gewonnene Filtrat wurde schwach mit Essigsäure angesäuert der Destillation mit dem Wasserdampfstrom unterworfen. Das Destillat gab weder mit Millon's Reagens, noch mit Bromwasser irgend eine erkennbare Reaction. Phenol und Kresole fehlten also vollständig.

Der Rest wurde sodann mit essigsaurem Quecksilberoxyd gefällt; der enstandene Quecksilberniederschlag, welcher das Leucin enthalten musste, wurde nach dem Absetzenlassen filtrirt, in Aq. aufgenommen, das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff völlig entfernt, bis auf einen kleinen Rest eingedampft und zum Krystallisiren hingestellt. Es schied sich kein Leucin ab. Hätte bei der mitgetheilten Versuchsanordnung wohl auch ein geringer Theil der Entdeckung entgehen können, so ist das vollständige Fehlen dennoch durchaus bemerkenswerth.

Es ist sonach bei der Einwirkung des B. lactis auf die Milch nur ein minimaler Verlust von stickstoffhaltigem Material nachweisbar gewesen. Die Producte der Eiweissfäulniss wurden indess vollständig vermisst.

### Analyse des bei der durch B. lactis eingeleiteten Gährung sich entwickelnden Gases.

4. Der folgende Versuch wurde mit Milch angestellt, welche absichtlich nicht mit absoluter Strenge steril gemacht worden war, sondern nur nach dem jetzt in der Praxis üblichen Verfahren in dem Soxhlet'schen Milchkochapparat abgekocht war. Nach den oben mitgetheilten Erfahrungen

über die Einwirkung von B. lactis auf andere Bacterienarten konnte man erwarten, dass nach der Impfung mit B. lactis die etwa durch das Kochen nicht völlig vernichteten Bacterienkeime in der Milch nicht werden zur Wirkung kommen können, und es kam mir in diesem Versuche darauf an, die Milch möglichst so zu erhalten, wie sie in der Praxis selbst zur Verwendung kommt. Ich will dabei nicht unerwähnt lassen, dass es mir geglückt ist, Milch, welche im Soxhlet'schen Apparat nach der von dem Erfinder angegebenen Vorschrift abgekocht worden war, über 3 Wochen ungeronnen und durchaus frisch zu erhalten.

2 Flaschen der für den Soxhlet'schen Apparat in der Regel verwandten Grösse (von 150 cbcm. Inhalt) wurden mit Milch bis an den Hals gefüllt, die Milch nach dem vorgeschriebenen Verfahren unter Anwendung von gut schliessenden, mit Glasstöpseln versehenen Gummistopfen gekocht. Das eine der Fläschchen wurde mit B. lactis geimpft, das andere zur Controle steril gelassen, beide in den Brütofen bei 34° C. eingebracht. Am 2. Tage ist die Milch in dem ersten, geimpften Fläschchen geronnen, der Glasstöpsel ist aus dem Gummistopfen herausgeschleudert worden; es hatte sonach lebhafte Gasbildung stattgefunden. In dem 2. Fläschchen ist die Milch unverändert und dieselbe blieb auch unverändert durch 5 Tage; aus dem ersten Fläschchen wurde der immer neu eingesetzte Glasstopfen noch mehrmals herausgeschleudert. Am 6. Tage wurde in das 2. bisher anscheinend steril gehaltene Fläschchen an Stelle des Gummistopfens ein vorher bei 140° sterilisirtes gasableitendes Rohr luftdicht eingesetzt, das Fläschchen mit B. lactis geimpft und bei Zimmertemperatur so stehen gelassen, dass das sich entwickelnde Gas unter Quecksilber in einer völlig trockenen Bunsen'schen Absorptionsröhre aufgefangen wurde. Am 3. Tage nach der Impfung begann die Gerinnung der Milch und allmälig auch die Gasentwickelung, welche 4 Tage unterhalten blieb. Am 7. Tage wurde der Versuch abgebrochen und das gebildete Gas zur Analyse genommen, bei welcher ich mich der dankenswerthen Unterstützung des Herrn Professor Kossel zu erfreuen hatte. Dieselbe hatte,

nach der Bunsen'schen Methode ausgeführt, folgende Ergebnisse:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Anfängliches Volumen . . . . = | 30,174 | cbcm. | bei 0° | und 1 m. | Druck. |
| Nach der Absorption durch die Kalikugel . . . . . . . . = | 23,45 | » | » 0° | » 1 » | » |
| Es ist also Kohlensäure gebildet worden . . . . . . . = | 6,724 | » | » 0° | » 1 » | » |
| Nach Umfüllung in das Eudiometer ist das Anfangsvolumen = | 17,388 | » | » 0° | » 1 » | » |
| Nach Zuführung von Sauerstoff. = | 42,0631 | » | » 0° | » 1 » | » |

Es erfolgte durch die electrischen Funken Explosion.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Nach der Explosion . . . . . = | 28,014 | cbcm. | bei 0° | und 1 m. | Druck. |
| Nach der Absorption durch die neuerdings eingeführte Kalikugel = | 25,967 | » | » 0° | » 1 » | » |
| Darnach berechnet sich in . . | 17,3880 | . » | | | |
| $H_2$ . . . . . . . . . . . . = | 6,6367 | » | » 0° | » 1 » | » |
| $CH_4$ . . . . . . . . . . . . = | 2,0470 | » | » 0° | » 1 » | » |
| Rest (N) . . . . . . . . . . = | 8,7043 | » | » 0° | » 1 » | » |

Die Analyse ergab sonach neben Kohlensäure eine gewisse Menge H und $CH_4$ und wir haben somit in B. lactis eines jener Bacterien gefunden, welches im Stande ist, unter Zerlegung des Milchzuckers in Essigsäure die Weitervergährung der Essigsäure zu $CH_4$ zu bewirken. Wir sehen somit den jüngst von Hoppe-Seyler[1]) ausgesprochenen Satz, «dass auch im Darme von Menschen und Thieren das Auftreten von Methan nicht allein auf Spaltung von Cellulose zu beziehen sei, sondern durch die zahlreichen in der Nahrung eingeführten Körper, die unter Bildung von Acetat durch die Fäulniss zerspalten werden, wesentlich mitbewirkt werde», durchaus erwiesen, und wir haben, indem wir nach der vorliegenden Untersuchung das im Darmkanal der Säuglinge erzeugte Gasgemenge wesentlich als aus $CO_2$, H, $CH_4$ bestehend ansprechen dürfen, die Quelle dieser Gährung wohl fast ausschliesslich in dem Milchzucker der dargebotenen Milchnahrung gefunden und als einen der Gährungserreger das B. lactis aërogenes somit erwiesen.

---

1) Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. 11, S. 567.

Nach Unterbrechung der Gasaufsammlung wurde mit den beiden in den Flaschen zur Untersuchung gewonnenen Milchmengen gemeinschaftlich in folgender Weise verfahren. Das gebildete Gerinnsel wurde durch Coliren entfernt und die etwas trübe graue Molke der Destillation mit dem Wasserdampfstrom unterworfen. In dem Destillat ergab weder Millon's Reagens, noch Bromwasser irgend eine für gebildete Phenol oder Kresole massgebende Reaction. Nach der Destillation wurde der verbliebene Rest in der Absicht, nach Leucin und Tyrosin zu untersuchen, unter Hinzufügung eines mit heissem Wasser gemachten Auszuges des Caseingerinnsels mit Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure gefällt, vom Niederschlag abfiltrirt, der Ueberschuss der Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure mit Barytwasser in der Wärme entfernt, der überschüssige Baryt durch eingeleitete Kohlensäure niedergeschlagen und filtrirt. Das so erhaltene Filtrat gab mit Millon's Reagens keine Reaction; dasselbe war also mit Wahrscheinlichkeit frei von Tyrosin, nichtsdestoweniger enthielt dasselbe eine gewisse Menge von N, wie sich durch eine nach der Kjeldahl'schen Methode ausgeführte Untersuchung einer kleinen Probe erweisen liess. Hält man diese Erfahrung mit der oben gelegentlich der Stickstoffbestimmungen bei der Milchgährung gewonnenen zusammen, so hat es den Anschein, wie wenn unter dem Einfluss des B. lactis auf die N-haltigen Bestandtheile der Milch die gewöhnlichen und bekannten Producte der Fäulniss nicht gebildet werden, dass die N-haltigen Körper im Ganzen nur minimal angegriffen werden, dass indess aus diesen geringen verbrauchten Mengen N-haltigen Materials Körper gebildet werden, welche sich gegen Phosphorwolframsäure ähnlich verhalten, wie die Amidosäuren, da sie durch dieselben nicht fällbar sind, dass sie indess dem Millon'schen Reagens gegenüber und gegen Bromwasser nicht das Verhalten zeigen, welches dem Tyrosin zukommt.

Es wird weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben müssen, nach diesen N-haltigen Producten zu suchen. Der Rest des Filtrats wurde mit essigsaurem Quecksilberoxyd gefällt. Der Niederschlag nach dem Abstehen in Aq. auf-

genommen, mit HS zerlegt, filtrirt, bis zur Krystallisation concentrirt, stehen gelassen. Es scheidet sich nach längerem Stehen kein Leucin ab. Also auch hier dasselbe Resultat wie oben.

### IV. Andere biologische Eigenschaften des B. lactis.

Wie ich schon an anderer Stelle[1]) mitgetheilt habe, entwickelt das B. lactis während seines Wachsthums sehr energisch reducirende Eigenschaften. Die gebildeten, die Reduction einleitenden Stoffwechselproducte diffundiren durch die Nährlösungen, auch wenn dieselben die Consistenz der Fleischpeptongelatine haben, auf weite Strecken und selbst durch Thoncylinder hindurch.

Auf Fleischpeptongelatine, welche in 10 cbcm. = 0,5 cbcm. einer $^1/_2$ Normalnatronlauge entsprechenden Essigsäure enthält, wächst B. lactis nicht mehr. Das oben erwähnte Absterben der Culturen in den durch die eigene Gährwirkung sauer gewordenen ursprünglich zuckerhaltigen Nährlösungen erklärt sich auf solche Weise.

B. lactis ist aber im Stande, bei Darreichung von Milchzucker als Nährmedium anderen Bacterien das Aufkeimen unmöglich zu machen. Das oben erwähnte «weisse verflüssigende Bacterium», welches ich aus pathologischen Fäces gezüchtet habe, und welchem, wie nicht unwahrscheinlich, eine nicht unbedeutende pathogenetische Rolle bei gewissen Verdauungsstörungen der Kinder zukommt, gedeiht nicht auf dem ursprünglich zuckerhaltigen, von B. lactis zu saurer Gährung gebrachten Nährmedium. Bringt man B. lactis mit dem letzterwähnten Bacterium auf Gelatine, welcher ein Zusatz von Milchzucker gemacht, so wächst unter mächtiger Entwickelung von Gasblasen B. lactis, während die Verflüssigung der Gelatine, welche dem letztgenannten Bacterium sonst in ausgezeichneter Weise zukommt, überhaupt ausbleibt. Es ist dies ein für die Pathologie, wie mir scheinen will, ausserordentlich wichtiger Fingerzeig, weil er die Bedeutung

---

[1]) Verhandl. d. physiolog. Gesellschaft (9. December 1887) zu Berlin.

der von B. lactis eingeleiteten und unterhaltenen Stoffumsetzungen für anderweitige und insbesondere für feindselige Gährungsvorgänge im kindlichen Darmtractus darthut. Ich werde an anderer Stelle auf dieselben, deren Kenntniss und Werth übrigens auch Escherich nicht entgangen ist, zurückkommen. Dass auf der anderen Seite die intensive Gährwirkung des B. lactis auf Milchzucker bis zur Essigsäure- und Methangährung für die Pathologie Bedeutung gewinnen kann, wird leicht einleuchten und soll an dieser Stelle nur angedeutet werden.

Setzt man zu 10 cbcm. Fleischpeptongelatine 0,5 cbcm. Normalnatronlauge, so gedeiht B. lactis sehr üppig, ja wohl stärker, als sonst. Das Wachsthum nimmt aber schon beträchtlich ab, wenn auf 10 cbcm. Gelatine 1 cbcm. Normalnatronlauge verwendet ist.

Bei Verwendung von 2 cbcm. NaO : 10 cbcm. Gelatine findet nur noch ganz geringes Oberflächenwachsthum statt. Man wird schliessen können, dass auch erhebliche im Darmkanal der Kinder zur Wirkung kommende Alkalescenz das Wachsthum und Gedeihen von B. lactis hemmt.

Auf Zusatz von 0,05 Benzoesäure : 10 cbcm. Gelatine erfolgt kein Wachsthum, geringes bei Borsäure- und Resorcinzusatz.

Auf Zusatz von 0,05 Jodoform : 10 cbcm. Gelatine wenig behindertes Wachsthum.

Auf Zusatz von 0,05 Naphthalin : 10 cbcm. Gelatine ausserordentlich reichliches Wachsthum unter starker Gasentwickelung.

Bei 0,05 Calomel : 10 cbcm. Gelatine zeigt sich eine gewisse Menge des Calomel zu einer dunkelschwarzen Masse verändert, wahrscheinlich reducirt. Kein Wachsthum im Stichkanal, nur reichliches Wachsthum an der Oberfläche. Calomel behindert also unzweifelhaft bis zu einem gewissen Grade das Gedeihen des Bacterium. Nachdem Morax[1]) den

---

[1]) Zeitschrift f. physiolog. Chemie, Bd. 10, S. 325.

Nachweis geführt hat, dass Calomel bei gewöhnlicher Verdauung die Eiweissfäulniss im Darmkanal nicht behindert, und nachdem auf der anderen Seite die practischen Erfahrungen am Kinderkrankenbett uns alltäglich die hervorragende Bedeutung dieses Mittels gegenüber gewissen Formen von Kinderdiarrhöen kennen gelehrt haben, werden wir an der Hand der vorliegenden Erfahrung, dass Calomel das Wachsthum und wohl auch die Wirkungsfähigkeit von B. lactis beschränkt, jetzt besseres Verständniss für gewisse Formen von Diarrhöen erhalten können. Wahrscheinlich ist die Calomelwirkung dort bedeutungsvoll, wo es sich um die pathogene Wirkung der von B. lactis allzu reichlich gebildeten Essigsäure handelt. Auf der anderen Seite wird sich aus der gewonnenen Erfahrung und vorzüglich aus dem Verhalten des B. lactis in zuckerhaltigen Nährlösungen, gegenüber den eigentlichen (verflüssigenden), Eiweissfäulniss bedingenden Bacterien, von denen oben die Rede war, verstehen lassen, warum wir, was Hirschler[1]) gefunden hat, im Stande sind, einer zu heftigen Fäulniss im Darmkanale durch Beigabe von Kohlehydraten zur Nahrung zu begegnen. Wir ermöglichen augenscheinlich, indem wir B. lactis und ähnliche wie dieses, auf Kohlehydrate wirkende Bacterien in möglichst geeignete und gute Lebensbedingungen bringen, jenen Wettstreit der Gährungserreger, in welchem die Eiweissfäulniss bedingenden Microorganismen unterliegen. Welche Tragweite alle diese Gesichtspunkte für die Fragen der einzelnen Formen der Kinderdiarrhöen haben, behalte ich mir vor, an anderer Stelle auseinanderzusetzen.

Ueberblicken wir die ganze Reihe der mitgetheilten Untersuchungen, so haben wir in B. lactis aërogenes (Escherich) ein Bacterium gefunden, welches den Milchzucker in ausgiebigster Weise, unter Bildung kleiner Mengen von Aceton, zu Essigsäure, und weiter zu Kohlensäure, Methan und Wasserstoff vergährt. Nur ganz geringe Mengen von Milchsäure sind bei dieser Gährung zu entdecken. Die neutralen milchsauren

[1]) Hirschler, Zeitschrift f. physiolog. Chemie, Bd. 10, S. 317.

Salze aber ist dieses Bacterium im Stande in buttersaure überzuführen, und das Bacterium reiht sich so den schon bekannten, von Pasteur und Fitz beschriebenen Buttersäurebildnern an. Auf Amylum wirkt das Bacterium nur unter Sauerstoffzufuhr ein, indess ist eine Zuckerbildung nicht zur Erscheinung gekommen, vielmehr erscheint auch hier directe Bildung von Essigsäure. Während ich in fast allen bisher erwähnten Punkten nur in so weit zu übereinstimmenden Resultaten mit denjenigen Escherich's gekommen bin, dass B. lactis eine intensive Gährwirkung auf Zucker hat, konnte ich durchaus bestätigen, dass eine der Eiweissfäulniss entsprechende Wirkung von dem Bacterium auf die stickstoffhaltigen Bestandtheile der Milch nicht ausgeübt wird, vielmehr fehlten, wenngleich ein gewisser Verbrauch von N-haltigem Material statt hat, die Producte der Eiweissfäulniss vollständig. — Die hervorstehende Eigenschaft des Bacterium, Essigsäure zu bilden, veranlasst mich, für dasselbe den Namen B. aceticum vorzuschlagen, was um so zweckmässiger sein dürfte, als schon einige in der Milch vorkommende Bacterien den Namen B. lactis führen.

# Ueber das Vorkommen der Harnsäure im Harne der Herbivoren.

Von

**Stud. med. Franz Mittelbach.**

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität in Prag.)

(Der Redaction zugegangen am 20. April 1888.)

Da in der Litteratur über das Vorkommen der Harnsäure im Harne der Herbivoren keine genaueren und bestimmteren Daten existiren, so unternahm ich es, auf Anregung des Herrn Prof. Dr. Huppert, eine grössere Anzahl Harne von Herbivoren auf ihren Gehalt an Harnsäure zu untersuchen. In dieser Arbeit wurde ich durch zwei Collegen (Herzum und Tschek) unterstützt, und nur so war es möglich, in relativ kurzer Zeit 42 Herbivorenharne einer Untersuchung zu unterziehen.

Vor Allem sei erwähnt, dass wir die Ausfällung der Harnsäure nach der Ludwig'schen Methode vornahmen; wir wählten aber deshalb diesen längeren Weg und nicht den der Fällung durch Salzsäure, weil durch diese keineswegs alle Harnsäure gefällt wird und so Spuren von Harnsäure leicht übersehen werden können.

Wir verarbeiteten zunächst Harne von 23 verschiedenen Ochsen; sie wurden aus den frisch geschlachteten Thieren durch Eröffnung der Blase in reine Gläser oder Flaschen entleert. Alle diese Harne waren meist sehr concentrirt und zeigten eine Dichte von 1033—1042,5; doch waren 5 derselben auch ziemlich dünn und zeigten dementsprechend eine Dichte von nur 1010—1022. Von den Harnen waren 17 mehr oder minder stark alkalisch, 3 reagirten sauer, 3 amphoter.

Entsprechend den Concentrationen schwankte die Farbe zwischen strohgelb und tief braungelb. Phosphorsäure liess sich mit Magnesiamischung bei 12 derselben in grösserer Menge nachweisen, in 11 Fällen fehlte sie ganz oder fast ganz. Von den concentrirten wurden je 200 cbcm., von den diluirten je 500 cbcm. verarbeitet. An Silbernitrat, Magnesiamischung und Schwefelnatrium verbrauchten wir in jedem Falle je 10 cbcm., wobei im Filtrat immer noch Silber nachweisbar war. Das Resultat war stets ein positives; die Murexidprobe gelang immer in befriedigender Weise, ebenso konnte der mikroskopische Nachweis in den Fällen, wo er versucht wurde, geführt werden.

Ferner gelangten 7 Kuhharne zur Untersuchung. Sie waren sämmtlich vom lebenden Thiere unmittelbar in Glasgefässe entleert worden. Von sehr geringer Dichte, 1005—1011, waren sie sämmtlich mehr oder weniger strohgelb gefärbt, 5 derselben reagirten alkalisch, 1 sauer, 1 amphoter. Phosphorsäure fand sich nur in zweien derselben. Diese Harne waren so dünn, weil sie bald nach dem Tränken entleert wurden. Um die Harnsäure in so diluirten Harnen nicht zu übersehen, wurden je 500 cbcm. verarbeitet. Wieder waren alle Rückstände krystallinisch und gaben deutlich die Murexidprobe.

Weiter untersuchten wir 7 Schöpsenharne; diese waren vom lebenden Thiere direkt nicht zu haben, wurden deshalb durch Aufschneiden der Blase gewonnen. Allein die Quantitäten, die wir auf diese Weise von einem Thier bekamen, waren so geringe, dass wir je 2 oder 3 derselben als Ganzes untersuchten. Solcher Gemische nun wurden 7 bearbeitet und zwar in Quantitäten, wie sie eben vorhanden waren; sie betrugen 67—180 cbcm. und erreichten nur in einem Falle 200 cbcm. Der Vollständigkeit halber seien auch die Charakteristika dieser Mischungen angereiht. Ihre Dichte schwankte zwischen 1010 und 1042,5, die Reaktion aller war alkalisch, ihre Farbe gelbbraun, Phosphorsäure war nur bei 2 derselben in Spuren nachzuweisen. Wiederum liess sich der krystallinische Rückstand durch die Murexidprobe als Harnsäure bestimmen.

Die Pferdeharne, deren 5 untersucht wurden, zeigten alle reichliches Sediment von $CaCO_3$; unter dem Mikroskope stellte es sich dar als radiär gestreifte, gelbliche Kugeln. Alle diese Harne reagirten stark alkalisch, die Dichte war ziemlich gross, bis zu 1045. Abgesehen von diesen ganz gewöhnlichen Eigenschaften, zeigten sie ein besonderes Verhalten in Bezug auf die Darstellung der Harnsäure. Es reducirten nämlich fast alle das Silbersalz — jedenfalls wegen des Gehaltes an aromatischen Substanzen —, in Folge dessen wir 30—40 cbcm. der Silberlösung auf 200 Harn zusetzen mussten. Von Phosphaten war in allen Fällen keine Spur; trotzdem nun grosse Quantitäten an Phosphaten zugetetzt wurden, nahm das Filtriren einer Quantität fast 3 Stunden in Anspruch. Die Rückstände waren mitunter sehr dunkel, fast schwarz gefärbt, gaben jedoch alle die Murexidprobe. Soweit unsere Untersuchungen.

Wenn nun auch eine Versuchsreihe von 35 Fällen keine allzu grosse genannt werden kann, so dürfte es doch zum Mindesten als höchst wahrscheinlich erscheinen, dass die Harnsäure auch im Harne der Herbivoren einen normalen und constanten Bestandtheil ausmacht.

Vergleichsweise haben wir es nun nicht unterlassen, auch den Harn vom Schweine, einem Omnivoren, nach obiger Methode auf Harnsäure zu untersuchen. Wir benutzten dazu Harn aus der Blase des geschlachteten Thieres. Diese Harne — 9 an Zahl — zeigten alle eine mehr bräunliche Farbe, eine Dichte von 1006—1032, 8 eine stark saure, einer eine amphotere Reaktion; in 4 derselben liess sich Phosphorsäure reichlich nachweisen, in den anderen nur in Spuren. Es wurden je 200 cbcm. verarbeitet. Der Rückstand, der übrigens nicht reichlicher als wie bei den obigen Fällungen zu sein schien, gab, wie nach den Erfahrungen von Salomon zu erwarten war, auch in jedem einzelnen Fall die Murexidprobe.

Einige quantitative Bestimmungen, welche nachfolgen, geben eine Vorstellung von der Menge der im Herbivorenharne enthaltenen Harnsäure.

In 6 Ochsenharnen wurde gefunden für 100 cbcm.:

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| bei | 1012 | 1022 | 1032,5 | 1034 | 1039,5 | 1040 | Dichte |
| | 9,0 | 45,3 | 19,1 | 19,6 | 33,3 | 8,8 | mgr. Harnsäure, |

in 3 Schweinsharnen für 100 cbcm.:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| bei | 1006 | 1022,5 | 1024 | Dichte |
| | 3,5 | 30,6 | 33,5 | mgr. Harnsäure. |

Wiewohl die Harnsäure in keinem einzigen Falle vermisst wurde, so erscheint es doch wünschenswerth, dass Herbivorenharne in noch grösserer Anzahl nach der Ludwig'schen Methode auf Harnsäure untersucht werden, was leicht von solchen Forschern geschehen könnte, denen dergleichen Harne leichter zugänglich sind, als sie es uns waren. Sollte sich, wie zu erwarten, dabei bestätigen, dass die Harnsäure im Pflanzenfresserharn einen ebenso constanten Bestandtheil ausmacht, wie im Harn des Menschen, dann wäre anzunehmen, dass in dieser Hinsicht zwischen dem Stoffwechsel der Herbivoren und des Menschen kein Unterschied bestände.

# Ueber die densimetrische Bestimmung des Eiweisses.

Von

**Huppert und Záhoř.**

Mitgetheilt von Huppert.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität in Prag.
(Der Redaction zugegangen am 20. April 1888.)

Alle bisherigen Versuche, die Menge des in einer Lösung befindlichen Eiweisses aus der bei der Entfernung des Eiweisses eintretenden Dichteabnahme der Flüssigkeit zu bestimmen, beruhten auf der Voraussetzung, dass die Verminderung der Dichte unter allen Umständen der Menge des gefällten Eiweisses direkt proportional sei. Dementsprechend galt der Faktor, mit welchem der beobachtete Dichteunterschied zu multipliciren ist, um die Menge des gefällten Eiweisses zu finden, als constant.

Budde[1]) hat aber gezeigt, dass diese Annahme eine irrige ist. Zum leichteren Verständniss der folgenden, von Budde gegebenen Auseinandersetzung wolle man sich erinnern, dass man die Dichte einer Flüssigkeit erhält, wenn man das Gewicht derselben dividirt durch ihr Volumen, das Volumen dagegen, wenn man ihr Gewicht dividirt durch die Dichte. Es seien in 100 gr. Lösung enthalten x gr. Eiweiss, die Lösung habe eine Dichte v und das Eiweiss eine Dichte $v_2$. Aus diesen Daten soll die Dichte der vom Eiweiss befreiten

[1]) Budde, Bibliothek for Laeger, Bd. 20, 1870; das Wesentliche davon in Pflüger's Archiv, Bd. 37, S. 498, und Bd. 40, S. 137. — Dr. Budde hat die grosse Gefälligkeit gehabt, mir einen ausführlichen deutschen Auszug seiner Abhandlung zur Verfügung zu stellen.

Flüssigkeit, $v_1$, berechnet werden. Es ist also zu dividiren das Gewicht der eiweissfreien Flüssigkeit $100 - x$ durch ihr Volumen. Dieses ist aber das Volumen der ursprünglichen Lösung $\frac{100}{v}$ weniger dem Volumen des entfernten Eiweisses $\frac{x}{v_2}$.

Man erhält also:

$$v_1 = \frac{100 - x}{\frac{100}{v} - \frac{x}{v_2}}$$

Die Auflösung dieser Gleichung für x ergiebt:

$$x = \frac{100\, v_2}{v(v_2 - v_1)} (v - v_1).$$

Wollte man aus der Dichteabnahme $v - v_1$, welche bei der Entfernung des Eiweisses eingetreten ist, die Menge des Eiweisses berechnen, so hätte man $v - v_1$ zu multipliciren mit $\frac{100\, v_2}{v(v_2 - v_1)}$. Dieser Bruch wäre der gesuchte Faktor. In demselben können wenigstens v und $v_1$ in jedem einzelnen Falle andere Grössen sein, der Faktor ist demnach nicht constant, sondern abhängig von den Werthen, welche v und $v_1$ im einzelnen Falle besitzen, und wenn $v_2$ gleichfalls nicht constant wäre, auch vom Werthe dieses. Man würde also zu unrichtigen Zahlen für x gelangen, wenn man die Dichteabnahme mit einem constanten Faktor multiplicirte.

Um die Bedeutung der Variablen v und $v_1$ für die Veränderlichkeit des Faktors anschaulich zu machen, hat Budde ein Beispiel gegeben, welchem folgendes nachgebildet ist.

Es seien in 200 gr. Wasser 4 gr. Eiweiss und 4 gr. NaCl gelöst; die Dichte des Eiweisses sei nach C. Schmidt 1,28, die des Salzes 2,15. Wenn die bei der Lösung eintretende Contraction der gelösten Körper unberücksichtigt bleibt, was für diese Ueberschlagsrechnung gestattet ist, so nehmen

| | | |
|---|---|---|
| 200 gr. Wasser | den Raum ein von | 200 cbcm. |
| 4 » Eiweiss | | 3,125 » |
| 4 » NaCl | | 1,860 » |
| 208 gr. Lösung | | 204,985 cbcm. |

Es ist dann die Dichte

$$v = \frac{208}{204,985} = 1,0147.$$

Nach Entfernung des Eiweisses beträgt das Gewicht der Lösung nur noch 204 gr., ihr Volumen 201,86, und die Dichte $v_1$

ist demnach $= \frac{204}{201,86} = 1,0106,$

somit $v - v_1 = 0,0041.$

In einem anderen Fall seien in 200 gr. Wasser gleichfalls 4 gr. Eiweiss, dagegen 8 gr. NaCl gelöst. Es ist dann

$$v = \frac{212}{206,845} = 1,0249,$$

$$v_1 = \frac{208}{203,72} = 1,0210,$$

und $v - v_1 = 0,0039.$

Im ersten Fall enthält die Lösung in 100 gr. 1,9231 gr. Eiweiss und der Faktor $\frac{x}{v - v_1}$ wäre = 468, im zweiten Fall beträgt der Eiweissgehalt 1,8868 % und der Faktor wäre = 482.

Die Theorie ergiebt also unzweifelhaft, dass der Faktor eine veränderliche Grösse ist. Eine andere Frage ist aber die, inwieweit sich die thatsächlichen Verhältnisse der Theorie anpassen. Darüber ein Urtheil zu gewinnen, war Aufgabe der vorliegenden Untersuchung.

Dazu waren von Eiweisslösungen ihr Gehalt an Eiweiss, sowie die Dichten vor und nach der Entfernung des Eiweisses zu bestimmen. Wir haben uns in die Arbeit so getheilt, dass von Záhoř die Eiweiss-, von mir die Dichtebestimmungen ausgeführt wurden.

Die Eiweisslösungen wurden zunächst auf denjenigen Säuregrad gebracht, bei welchem alles Eiweiss durch Erhitzen coagulirte. Es wurden dann von den Lösungen mit der Burette zwei gleiche Volumen abgemessen, die Flüssigkeit wenn nöthig verdünnt, zuerst im Wasserbad, dann noch bis zum Sieden über freier Flamme erhitzt, das Gerinnsel auf getrockneten aschefreien Filtern gesammelt, mit heissem Wasser salzfrei und endlich noch mit Alkohol und Aether gewaschen. Die Filter

wurden darauf wieder bei 115—120° so lange getrocknet, bis die Gewichtsabnahme von einem Tag auf den andern nur 0,1—0,2 mgr. betrug. Das trockne Eiweiss wurde zuletzt verascht und die Asche vom Trockengewicht in Abzug gebracht. Aus den beiden so gewonnenen Resultaten wurde das Mittel genommen.

Záhoř besass bei der Anstellung dieser Analysen bereits eine sehr grosse Uebung und hat auf die Bestimmungen die möglichste Sorgfalt verwendet. Gleichwohl waren in den Milligrammen Abweichungen der einzelnen Resultate von einander nicht zu vermeiden. Wenn man nun berücksichtigt, dass das Eiweiss meist nur in 5—10 cbcm. Lösung bestimmt wurde, so wird man zufrieden sein müssen, wenn in den Analysenpaaren die Eiweissprocente nur in der zweiten Decimale von einander abweichen.

Dieselbe Flüssigkeit, von welcher ein Theil zur Bestimmung des Eiweisses verwendet wurde, diente auch zur Dichtebestimmung. Sie wurde mittelst eines Sprengel'schen Pyknometers mit eingeschmolzenem Thermometer ausgeführt. Die Füllung desselben geschah immer bei derselben Temperatur (17,5°), und es wurde dafür gesorgt, dass das Wasser, in welches das Pyknometer getaucht war, in allen Schichten die gleiche Temperatur hatte. Die Einstellung der Flüssigkeit auf die Marke des Pyknometers und die Wägung wurden stets wenigstens noch einmal wiederholt, und wenn diese zwei Wägungen um mehr als 0,1 mgr. verschieden waren, noch einmal. Das Pyknometer fasste gegen 13 gr. Wasser und die durch falsche Wägung bedingten Fehler in der Bestimmung der Dichte fielen dann erst in die 5. oder 6. Decimale. Es versteht sich von selbst, dass die Wägungen erst vorgenommen wurden, wenn das Pyknometer die Temperatur des Wageraumes angenommen hatte. In dieser Weise wurde ebensowohl mit den eiweisshaltigen, wie mit den enteiweissten Flüssigkeiten verfahren.

Zur Abscheidung des Eiweisses wurden die Lösungen in Medicinflaschen von ungefähr 300 cbcm. Inhalt gefüllt, in die Flaschen mit Natronlauge ausgekochte und vollständig gewaschene weiche Kautschukstopfen eingebunden, die Flaschen in Wasser gelegt, dieses zum Sieden erhitzt und 10—15 Min. im Sieden erhalten. Alsdann wurde das Glas aus dem Wasser gehoben. Nach dem Erkalten wurde das Gerinnsel durch ein Faltenfilter abfiltrirt. Um dabei die Verdunstung zu verhindern, war der Trichter mittelst eines durchbohrten Korkes fest in ein Kölbchen eingesetzt und der Trichter mit einer Glasplatte bedeckt. Es ist dazu zu bemerken, dass die Dichte der enteiweissten Flüssigkeit wegen der Löslichkeit des Glases in Wasser etwas zu hoch ausgefallen ist.

Im Ganzen wurden 20 Eiweisslösungen verschiedenen Ursprungs untersucht.

Von diesen waren No. 5, 7, 10, 12, 13, 17 und 20 native Ascitesflüssigkeiten, welche unmittelbar vor ihrer Verwendung filtrirt wurden.

Die Flüssigkeit 18 war aus 20 durch Zusatz von Kochsalz (2,5 gr. zu 100 cbcm.) hergestellt worden. No. 6 war ein Pleuratranssudat. In zwei anderen Flüssigkeiten wurde das Fibrin künstlich in Lösung erhalten. Von diesen war No. 14 Pferdeblutplasma, welches durch Mischen von 1 Vol. einer 25proc. Lösung krystallisirten Magnesiumsulfats mit 3,5 Vol. Blut und darauf folgendes Centrifugiren dargestellt worden war. Bei No. 15, einer Ascitesflüssigkeit, wurde die Gerinnung, welche bei dieser Flüssigkeit wie bei allen Transsudaten überhaupt eintrat, durch Zusatz von Säure verhindert. Das kann man unbeschadet der Coagulationsfähigkeit des Eiweisses. Denn wenn man, wie Brücke[1]) gezeigt hat, die Säure durch Alkali wieder abstumpft, so bleibt nicht nur das Fibrinogen in Lösung, sondern es kann auch alles Eiweiss durch Kochen zur Abscheidung gebracht werden. Von der Ascitesflüssigkeit wurden 500 cbcm. mit 5 cbcm. Salzsäure von 1,12 Dichte versetzt, und nach $^1/_4$ Stunde 1,75 cbcm. der Säure durch Natronlauge zurücktitrirt. Auf 1 Liter Transsudat kamen dann noch 7,5 cbcm. der Säure, so viel, als ein Transsudat in der Regel braucht, um es auf denjenigen Säuregrad zu bringen, bei welchem es in der Wärme alles Eiweiss abscheidet. In der That war das auch bei dem opalin gewordenen Transsudat der Fall.

Die übrigen Flüssigkeiten wurden aus Eiereiweiss dargestellt, welches durch Zusatz von 14 cbcm. Salzsäure von 1,12 Dichte auf 1 Liter und Filtriren vom grössten Theil des Globulins befreit war. Der Säurezusatz war damit zugleich so getroffen, dass das Filtrat beim Kochen vollkommen coagulirte. Vom Filtrat wurden 500 cbcm. mit 100 cbcm. gesättigter Kochsalzlösung vermischt und aus dieser Lösung durch systematisches Verdünnen mit Wasser Lösungen anderer Concentration dargestellt (No. 19, 16, 11, 9, 8, 4, 2, 1). Die Lösung 3 war in derselben Weise, aber ausser der Reihe, bereitet. Die Eiereiweisslösungen sind in der Tabelle mit * bezeichnet.

Die Flüssigkeiten waren also sehr mannichfacher Art. Sie enthielten Serumalbumin neben Serumglobulin und grössere oder kleinere Mengen Fibrinogen, Eieralbumin mit sehr wenig Globulin; eine enthielt Eiweiss, welches der Einwirkung von Salzsäure ausgesetzt gewesen war. Nicht minder verschieden waren sie nach Salzgehalt und Dichte. Je weiter die Grenzen der Versuchsbedingungen gezogen sind, um so verlässlicher müssen die Resultate erscheinen.

In der nachstehenden Tabelle sind diese mitgetheit.

Die einzelnen Fälle sind nach der Dichteabnahme geordnet. Die Buchstaben in den Reihenüberschriften haben folgende Bedeutung: x =

[1]) Brücke, Virchow's Archiv, Bd. 12, S. 189, 1857.

$^0/_0$ Eiweiss, vx = gr. Eiweiss in 100 cbcm., v die Anfangsdichte der Flüssigkeit, $v_1$ die Dichte derselben nach Entfernung des Eiweisses, $v - v_1$ die Dichteabnahme, F der Faktor, berechnet nach vx : $(v - v_1)$ und x : $(v - v_1)$, und $v_2$ die Dichte des in Lösung befindlichen Eiweisses; diese Grösse ergiebt sich aus der aus der Budde'schen Formel abgeleiteten Gleichung:

$$v_2 = \frac{xvv_1}{xv - 100\,(v - v_1)}.$$

**Tabelle I.**

| | vx | x | v | $v_1$ | $v - v_1$ | F | | $v_2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | vx | x | |
| 1* | 0,5951 | 0,5922 | 1,004890 | 1,003296 | 0,001594 | 373,3 | 371,5 | **1,370** |
| 2* | 1,0690 | 1,0609 | 7677 | 4676 | 3001 | 356,2 | 353,5 | **1,397** |
| 3* | 1,1620 | 1,1509 | 9646 | 6491 | 3155 | 368,3 | 364,8 | **1,382** |
| 4* | 1,4738 | 1,4517 | 15172 | 11425 | 3747 | 393,3 | 387,2 | **1,356** |
| 5 | 1,5565 | 1,5382 | 11867 | 7516 | 4351 | 357,7 | 353,5 | **1,399** |
| 6 | 1,6540 | 1,6342 | 12105 | 7456 | 4649 | 355,8 | 351,4 | **1,402** |
| 7 | 1,7935 | 1,7716 | 12336 | 7259 | 5077 | 353,3 | 348,9 | **1,405** |
| 8* | 2,0940 | 2,0578 | 17569 | 12083 | 5486 | 381,7 | 375,1 | **1,371** |
| 9* | 2,6145 | 2,5591 | 21627 | 14878 | 6749 | 387,4 | 379,2 | **1,368** |
| 10 | 2,7105 | 2,6690 | 15556 | 8224 | 7332 | 369,6 | 364,0 | **1,382** |
| 11* | 3,2100 | 3,1286 | 26028 | 18029 | 7999 | 401,3 | 391,1 | **1,356** |
| 12 | 3,0055 | 2,9595 | 15552 | 7623 | 8007 | 375,4 | 369,6 | **1,374** |
| 13 | 3,0419 | 2,9955 | 15467 | 7107 | 8359 | 363,9 | 358,4 | **1,389** |
| 14 | 4,1888 | 3,9723 | 54478 | 44963 | 9514 | 440,3 | 417,4 | **1,352** |
| 15 | 3,8695 | 3,7974 | 18994 | 8913 | 10076 | 384,0 | 376,9 | **1,364** |
| 16* | 4,2083 | 4,0670 | 34744 | 24276 | 10468 | 402,0 | 388 5 | **1,363** |
| 17 | 4,1560 | 4,0794 | 18773 | 7689 | 11084 | 375,0 | 367,9 | **1,374** |
| 18 | 4,7250 | 4,5537 | 37609 | 25964 | 11642 | 405,8 | 391,2 | 1,361 |
| 19* | 5,2570 | 5,2570 | 43153 | 30476 | 12677 | 414,7 | 397,6 | 1,358 |
| 20 | 4,8220 | 4,7245 | 20633 | 7840 | 12793 | 376,9 | 369,3 | 1,371 |

* Eiereiweiss.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass die Dichtedifferenzen $v - v_1$ im Allgemeinen in demselben Sinne verlaufen, wie die Eiweissmengen; berechnet man aber aus den Dichteunterschieden und den Eiweissmengen den jeweiligen Faktor, so erhält man sehr verschiedene, zwischen 353 und 440 liegende Werthe. Der Faktor ist also eine veränderliche Grösse und die Erfahrung stimmt in dieser Hinsicht mit der Theorie überein.

Damit ist die theoretische Seite der Frage erledigt. Für die praktische Seite der Frage, die Berechnung des Eiweisses aus der Dichteabnahme, folgt daraus, dass man für jeden einzelnen Fall einen besonderen Faktor braucht. Davon aber, ob es gelingt, ein Verfahren zu finden, nach welchem sich für jeden einzelnen Fall der betreffende Faktor auch ermitteln lässt, hängt die Verwendbarkeit der densimetrischen Methode für die Eiweissbestimmung ab. Im Folgenden berichte ich über meine hierauf gerichteten Bemühungen.

1. Zuerst habe ich nachgesehen, wie gross die Abweichungen zwischen den beobachteten und den berechneten Eiweissmengen (in 100 cbcm.) werden, wenn man sich eines gemeinschaftlichen Faktors bedient. Das arithmetische Mittel der Faktoren für vx ist 383; ich habe aber die Rechnung mit dem Faktor 388 ausgeführt, weil mit ihm die Summe der positiven Abweichungen nahezu gleich der Summe der negativen Abweichungen wird. Es ergaben sich dabei unter den 20 Beobachtungen 14 mal Abweichungen in der 1. Decimale, und zwar 6 mal um 1 Einheit (Fall 2, 5, 10, 11, 12 und 20), 6 mal um 2 Einheiten (Fall 6, 7, 13, 16, 17 und 18) und je einmal um 3 und um 5 Einheiten (Fall 19 und 14). Das Resultat ist also ein durchaus ungenügendes. Die Fehler werden im Allgemeinen um so bedeutender, je grösser die Dichte der Eiweisslösung und je grösser die Dichteabnahme ist. Wenn überhaupt, so lassen sich von der Verwendung eines gemeinsamen Faktors also nur dann einigermassen verwendbare Näherungswerthe erwarten, wenn es sich um die Bestimmung von Eiweiss in Flüssigkeiten handelt, deren Dichten und Dichteabnahmen wesentlich kleiner sind als in den vorliegenden Fällen.

2. Von complicirteren Faktoren habe ich zunächst den von Worm-Müller und Schröter[1]) aufgestellten versucht. Diese Forscher haben nämlich aus der Budde'schen Gleichung

---

[1]) Worm-Müller und J. Fr. Schröter, Pflüger's Archiv, Bd. 37, S. 512. 1885.

unter Anwendung einiger Kürzungen folgende andere abgeleitet:

$$x = \varkappa(v - v_1) - \alpha x^2,$$

welche für die Berechnung bequem erscheint, weil sie ausser den Constanten $\varkappa$ und $\alpha$ nur die beobachtete Grösse $v - v_1$ enthält. Die genannten Autoren haben mit dieser Gleichung das x nicht berechnet, sie dient ihnen nur dazu, zu zeigen, dass man sich in ihrem Fall (Bestimmung des Zuckers nach Roberts) eines constanten Faktors bedienen kann. Es wird nämlich in diesem Fall $\alpha x^2$ so klein, dass sie es aus der Gleichung weglassen; dann bleibt nur noch die eine Constante $\varkappa$ übrig, d. h. also, der Faktor ist constant.

Ich habe nun versucht, die ganze Formel zur Ermittlung der Eiweissmengen anzuwenden und dazu die Constanten nach der Methode der kleinsten Quadrate berechnet[1]. Es ergab sich:

$$\varkappa = 279{,}9, \quad \alpha = -0{,}0659.$$

Der Gleichung von Worm-Müller und Schröter kann man auch die Form geben:

$$v - v_1 = \frac{x + \alpha x^2}{\varkappa}.$$

Setzt man in diese Gleichung die Werthe für $\varkappa$ und $\alpha$ ein, so erhält man:

$$v - v_1 = \frac{x - 0{,}0659\, x^2}{279{,}9}.$$

Es wird also der Werth für $x^2$ negativ und deshalb ist die Gleichung für die Berechnung von x unbrauchbar. Denn wenn x den Werth von $\frac{1}{0{,}0659} = 15{,}165$ erreicht, so wird der Zähler des Bruchs $= 0$ und somit $v - v_1 = 0$. Das heisst, wenn der Eiweissgehalt der Lösung 15,165 % beträgt, sollte die Flüssigkeit nach der Abscheidung des Eiweisses

[1]) Bei der Lösung dieser und ähnlicher mathematischer Aufgaben, zu deren Bewältigung die Kenntnisse eines Mediciners mit bloss «klassischer» Gymnasialbildung nicht ausreichen, hat mich mein verehrter Collega, Herr Prof. Lippich, durch vielfache Rathschläge und Unterweisungen in der dankenswerthesten Weise unterstützt.

noch dieselbe Dichte besitzen, wie vorher, was unmöglich ist. Es würde ferner $v - v_1$ bei einem Gehalt der Flüssigkeit an $\frac{15,165}{2} = 8,5825\,\%$ das Maximum seines Werthes erreichen und bei einem Gehalt der Flüssigkeit von mehr als $15,165\,\%$ würde $v - v_1$ negativ werden (die Dichte mit der Entfernung des Eiweisses zunehmen). Die Formel giebt nur für relativ kleine Werthe von x brauchbare Resultate.

3. Aus meinen eigenen Versuchen zur Auffindung eines empirischen Faktors berichte ich zunächst über die Bemühungen, für $v_2$ in der Budde'schen Gleichung

$$x = \frac{100\, v_2}{v(v_2 - v_1)}\,(v - v_1)$$

einen brauchbaren Näherungswerth zu finden. Denn $v_2$, die Dichte des in Lösung befindlichen Eiweisses, ist, wie Tafel I zeigt, keine constante, sondern eine veränderliche Grösse.

Gegen diesen Satz könnte man einwenden, dass die Dichten des in Lösung befindlichen Eiweisses ja nur unter den von Budde gemachten Voraussetzungen berechnet sind. Es lässt sich aber zeigen, dass die Budde'sche Theorie sehr wohl mit unabhängig von ihr gewonnenen Thatsachen übereinstimmt. Die Gleichung

$$v_2 = \frac{x v v_1}{v x - 100\,(v - v_1)}$$

sagt u. A. aus, dass die Dichte des in Lösung befindlichen Eiweisses beeinflusst wird von der Eiweissmenge x und von der Dichte des Lösungsmittels $v_1$. Nun ist bekannt, dass Eiweiss durch gewisse Salze chemisch unverändert abgeschieden wird, wenn die Concentration der Salzlösung eine gewisse Höhe erreicht. Weiter hat Kauder[1]) gezeigt, dass das Globulin bei um so geringerem Salzzusatz fällt, je mehr Globulin sich in Lösung befindet. Die Fällbarkeit des Eiweisses ist also abhängig von der Concentration der Salzlösung und dem Gehalt der Lösung an Eiweiss. Es ist nun nicht anzunehmen, dass Salzlösungen von geringerer Concentration, als zum Fällen des Eiweisses erforderlich ist, ohne allen Einfluss auf die Verdichtung des Eiweisses seien; man wird sich vielmehr vorzustellen haben, dass mit dem Anwachsen des Salzgehaltes der Lösung die Contraction des Eiweisses zunimmt bis zu dem Punkte, wo es sich abscheidet, und demgemäss darf angenommen werden, dass die Dichte des in Lösung befindlichen Eiweisses je nach dem Gehalt der Lösung

---

1) Kauder, Archiv f. exper. Pathologie, Bd. 20, S. 420. 1886.

an Eiweiss und an Salz verschieden sein wird, wie das ja die Budde'sche Formel ausdrückt.

Die Thatsachen gehen sogar über das, was aus der Formel folgt, noch hinaus, da bei der Fällung des Eiweisses ausser der Concentration der Salzlösung auch noch die Natur des Salzes von Bedeutung ist.

Diese Veränderlichkeit der Dichte des Eiweisses hat ihr Analogon in der Abhängigkeit der specifischen Drehung optisch-activer Substanzen von der Concentration ihrer Lösungen und der Natur des Lösungsmittels.

Der Versuch, in der Budde'schen Formel $v_2$ durch das Mittel aus allen Beobachtungen, 1,3747, zu ersetzen, hatte ein unbefriedigendes Ergebniss, da die Abweichungen in den Eiweisszahlen bis zu 2 Einheiten in der ersten Decimale gingen. Es musste daher der jeweilige Werth von $v_2$ aufgesucht werden.

Bei der Betrachtung der Tabelle stellt sich heraus, dass die beobachteten Werthe von $v_2$ für eine grössere Anzahl der Fälle in umgekehrtem Sinne wie die von v und $v_1$ verlaufen, für $v_1$ noch etwas häufiger als für v. Es wurde deshalb $v_2$ berechnet zunächst nach

$$(1) \qquad v_2 = \alpha + \beta(v_1 - 1)$$

worin $\alpha$ und $\beta$ Constanten sind und $v_2$ als lineare Funktion von $v_1$ aufgefasst wird[1]). $v_1 - 1$ wurde statt $v_1$ lediglich der bequemeren Rechnung wegen gesetzt. Es ergab sich dabei:

$$\alpha = 1,3879, \ \beta = -0,9946.$$

Die hiernach berechneten Werthe von $v_2$ wurden in die Budde'sche Gleichung eingesetzt und dann weiter die in 100 cbcm. enthaltenen gr. Eiweiss berechnet nach

$$vx = \frac{100\, v_2}{v_2 - v_1}(v - v_1).$$

In Tabelle II sind die Werthe für $100\, v_2 : (v_2 - v_1)$ unter F und die für das Eiweiss unter vx angeführt. Die mit — versehenen Zahlen der Reihe $\Delta$ geben an, um wie viel weniger, die mit + versehenen, um wie viel mehr Eiweiss durch die Rechnung gefunden wurde, als durch die Wägung.

---

[1]) Die lineare Form wurde zur Berechnung der Constanten hier, sowie zur Berechnung der Constanten nach den Gleichungen (3), (4) und (5) deshalb gewählt, weil, wenn man die Werthe von v als Abscissen, die von $v_2$ als Ordinaten aufträgt, die Ordinaten viel eher durch eine Gerade als durch eine Curve verbunden werden können.

**Tabelle II.**

| | $v_2$ | F | vx | Δ |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,3846 | 363,2 | 0,5789 | — 0,0162 |
| 2 | 1,3832 | 365,4 | 1,0966 | + 0,0274 |
| 3 | 1,3814 | 368,4 | 1,1623 | + 0,0003 |
| 4 | 1,3765 | 377,0 | 1,4126 | — 0,0612 |
| 5 | 1,3804 | 370,2 | 1,6107 | + 0,0542 |
| 6 | 1,3805 | 370,1 | 1,7206 | + 0,0666 |
| 7 | 1,3807 | 369,8 | 1,8775 | + 0,0840 |
| 8 | 1,3759 | 378,2 | 2,0748 | — 0,0192 |
| 9 | 1,3731 | 383,3 | 2,5869 | — 0,0176 |
| 10 | 1,3797 | 371,4 | 2,7231 | + 0,0126 |
| 11 | 1,3700 | 389,2 | 3,1132 | — 0,0968 |
| 12 | 1,3803 | 370,4 | 2,9658 | — 0,0397 |
| 13 | 1,3808 | 369,5 | 3,0886 | + 0,0467 |
| 14 | 1,3431 | 450,6 | 4,2870 | + 0,0982 |
| 15 | 1,3790 | 372,6 | 3,5743 | — 0,1152 |
| 16 | 1,3637 | 401,8 | 4,2060 | — 0,0023 |
| 17 | 1,3802 | 370,5 | 4,1066 | — 0,0494 |
| 18 | 1,3620 | 405,4 | 4,7197 | — 0,0053 |
| 19 | 1,3576 | 415,0 | 5,2610 | + 0,0040 |
| 20 | 1,3801 | 370,7 | 4,7424 | — 0,0796 |
| | | | Σ | — 0,5025<br>+ 0,3931 |

Nur in einem Fall (No. 15) weicht die berechnete Eiweissmenge von der gewogenen um 1 in der ersten Decimale ab, die übrigen Abweichungen sind alle kleiner. Der Werth dieses Resultats ergiebt sich aus der weiter unten angestellten Betrachtung.

Die Hoffnung, dass $v_2$ noch genauer ausfallen könnte, wenn auch v berücksichtigt würde, hat sich nicht erfüllt. Bei der Berechnung von

(2) $$v_2 = \alpha + \beta(v_1 - 1) + \gamma(v - 1)$$

ergab sich $\alpha = 1{,}4051$, $\beta = 0{,}1916$, $\gamma = -1{,}4399$.

Die darnach berechneten Werthe von vx überschritten die beobachteten 4 mal um eine Einheit in der ersten Decimale (Fall 11, 16, 17 und 19).

4. Endlich wurden noch die empirischen Constanten für die Berechnung von $\frac{100\,v_2}{v_2 - v_1}$, des Faktors für vx ermittelt, der Reihe nach nach den Gleichungen

(3) $vx = [\alpha + \beta(v - 1)](v - v_1)$,

(4) $vx = [\alpha + \beta(v_1 - 1)](v - v_1)$,

(5) $vx = [\alpha + \beta(v - 1) + \gamma(v_1 - 1)](v - v_1)$,

wo der in [ ] eingeschlossene Ausdruck den Werth von $100\, v_2 : (v_2 - v_1)$ nach den Constanten $\alpha$, $\beta$ und $\gamma$ in linearer Funktion abhängig von $v$, $v_1$ und $v - v_1$ darstellt, den drei Momenten, welche Einfluss auf die Grösse von x nehmen. Bei der Berechnung der Constanten wurde gefunden für

(3) $\alpha = 345{,}29$, $\beta = 1677{,}00$,

(4) $\alpha = 359{,}4$, $\beta = 1820{,}8$,

(5) $\alpha = 351{,}424$, $\beta = 911{,}44$, $\gamma = 833{,}22$.

Von den Gleichungen giebt (5) bessere Resultate als die beiden anderen, weshalb nur diese in Tabelle III, unter denselben Bezeichnungen wie in Tabelle II, mitgetheilt werden.

**Tabelle III.**

| | F | vx | Δ |
|---|---|---|---|
| 1 | 358,6 | 0,5717 | — 0,0234 |
| 2 | 362,3 | 1,0873 | + 0,0183 |
| 3 | 365,6 | 1,1535 | — 0,0085 |
| 4 | 374,8 | 1,4043 | — 0,0685 |
| 5 | 368,5 | 1,6034 | + 0,0469 |
| 6 | 368,7 | 1,7139 | + 0,0599 |
| 7 | 368,7 | 1,8719 | + 0,0784 |
| 8 | 378,1 | 2,0743 | — 0,0197 |
| 9 | 383,5 | 2,5885 | — 0,0260 |
| 10 | 372,4 | 2.7301 | + 0,0196 |
| 11 | 391,1 | 3,1282 | — 0,0817 |
| 12 | 372,0 | 2,9782 | — 0,0273 |
| 13 | 371,4 | 3,1049 | + 0,0630 |
| 14 | 438,6 | 4,1724 | — 0,0164 |
| 15 | 376,2 | 3,7901 | — 0,0794 |
| 16 | 403,3 | 4,2219 | + 0,0136 |
| 17 | 374,8 | 4,1546 | — 0,0014 |
| 18 | 407,4 | 4,7432 | + 0,0182 |
| 19 | 416,2 | 5,2755 | — 0,0185 |
| 20 | 376,8 | 4,8198 | — 0,0021 |
| | | Σ | — 0,3729 |
| | | | + 0,3179 |

Die nach (3) und (4) berechneten Werthe weichen nicht sehr von denen nach (5) berechneten ab, doch stimmen sie weniger gut zu den beobachteten Werthen. In keinem der drei Fälle erreicht die Differenz zwischen dem berechneten und dem gefundenen Eiweiss eine Einheit in der ersten Decimale. Das Maximum der Abweichungen beträgt bei (3) — 0,0984, bei (4) 0,0981, bei (5) 0,817. Die Summe der Fehler macht bei (3) — 0,4480 + 0,3650 = — 0,0830 und die negativen Fehler überwiegen, während bei (4) die Summe der Fehler — 0,2892 + 0,4305 = + 0,1418 beträgt und die positiven Fehler überwiegen. Bei (5) gleichen sich die Fehler am besten aus (mit — 0,0550), sie fallen zwischen die von (3) und (4).

5. Bevor ich die bisher mitgetheilten Ergebnisse näher bespreche, theile ich noch mit, dass auch daran gedacht wurde, die Eiweissmengen zu berechnen nach

(6) $vx = \alpha(v - v_1) + \beta(v - v_1)^2 = [\alpha + \beta(v - v_1)](v - v_1)$

einer Formel, welche, wie bei dergleichen Berechnungen sonst üblich, auch noch die 2. Potenz von $v - v_1$ berücksichtigt. Eine derartige Rechnung ist aber von vornherein aussichtslos; denn im Faktor $[\alpha + \beta(v - v_1)]$ wächst die Constante $\alpha$ stetig um ein Multiplum von $v - v_1$, nämlich $\beta(v - v_1)$, der Faktor wäre am grössten, wo $v - v_1$ am grössten, und am kleinsten, wo $v - v_1$ am kleinsten ist, vorausgesetzt, dass $\beta$ positiv wäre. Ein solches Resultat entspricht jedoch, wie ein Blick auf Tabelle I zeigt, wo die Fälle nach $v - v_1$ geordnet sind, den Thatsachen durchaus nicht. Berechnet man vx mit den hierfür ermittelten Werthen der Constanten $\alpha = 334{,}125$, $\beta = 5722{,}5$

so kommt man zu grossen Differenzen. So ergiebt sich z. B. in Fall 14 vx = 3,7072 statt 4,1888 und im Fall 20 vx = 5,2109 statt 4,8220.

Es ist nun auf Grund des vorgelegten Materials zu untersuchen, welchen Grad von Genauigkeit die densimetrischen Eiweissbestimmungen erreichen. Von den Rechnungsergebnissen sind dabei nur die beiden in Tabelle II und III mitgetheilten als diejenigen zu berücksichtigen, welche den Wägungsbestimmungen am nächsten kommen. Die Aufgabe

lässt sich aber noch weiter dadurch vereinfachen, als die Resultate der Tabelle II als die minder genaueren von dem Vergleich ausgeschlossen werden.

Bei II ist die Summe der Abweichungen zwischen den gewogenen und den berechneten Eiweissmengen grösser als bei III, und die negativen Differenzen gleichen sich gegen die positiven nicht so gut aus, als bei III. Eine der Differenzen bei II erreicht die erste Decimale, was bei keiner der Differenzen bei III der Fall ist. Bei III stimmen 11 Fälle besser zu den gewogenen Eiweissmengen als bei II, bei II dagegen nur 8 Fälle besser als bei III; in einem Fall (8.) ist das Resultat in beiden Reihen gleich gut.

Ein Urtheil über die Genauigkeit der indirekt gewonnenen Resultate lässt sich bilden durch eine Vergleichung dieser mit den Differenzen, welche bei den Wägungsbestimmungen die Versuchspaare aufweisen. Tabelle IV enthält unter cbcm. das Volumen der Eiweisslösung, welches zu den Analysen abgemessen wurde, unter vx die beiden Wägungsresultate und unter Δ die Abweichungen derselben von einander. Daneben sind unter $vx^1$ und $\Delta^1$ die betreffenden Zahlen aus Tabelle III wiederholt.

**Tabelle IV.**

| | cbcm. | vx | | Δ | $vx^1$ | $\Delta^1$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 50 | 0,5972 | 0,5930 | 0,0042 | 0,5717 | 0,0234 |
| 2 | 20 | 1,0710 | 1,0670 | 40 | 1,0873 | 183 |
| 3 | 25 | 1,1620 | 1,1620 | 00 | 1,1535 | 85 |
| 4 | 20 | 1,4750 | 1,4725 | 25 | 1,4043 | 695 |
| 5 | 10 | 1,5670 | 1,5460 | 210 | 1,6034 | 469 |
| 6 | 10 | 1,6660 | 1,6420 | 240 | 1,7139 | 599 |
| 7 | 10 | 1,8050 | 1,7820 | 230 | 1,8719 | 784 |
| 8 | 10 | 2,1030 | 2,0850 | 180 | 2,0743 | 197 |
| 9 | 10 | 2,6210 | 2,6080 | 130 | 2,5885 | 260 |
| 10 | 10 | 2,7230 | 2,6980 | 350 | 2,7301 | 196 |
| 11 | 7,5 | 3,2253 | 3,1947 | 306 | 3,1282 | 817 |
| 12 | 10 | 3,0160 | 2,9950 | 210 | 2,9782 | 273 |
| 13 | 8 | 3,0625 | 3,0212 | 413 | 3,1049 | 630 |
| 14 | 4 | 4,2050 | 4,1725 | 325 | 4,1724 | 164 |
| 15 | 10 | 3,8810 | 3 8580 | 230 | 3,7901 | 794 |
| 16 | 6 | 4,2620 | 4,1550 | 1070 | 4,2219 | 136 |
| 17 | 5 | 4,1660 | 4,1460 | 200 | 4,1546 | 14 |
| 18 | 5 | 4,7480 | 4,7020 | 460 | 4,7432 | 182 |
| 19 | 5 | 5,2860 | 5,2280 | 580 | 5,2755 | 185 |
| 20 | 5 | 4,9360 | 4,7080 | 0,2280 | 4,8198 | 0,0021 |

Die Wägungsbestimmungen weichen im Mittel um 0,0382 von einander ab, während die mittlere Differenz zwischen Rechnung und Wägung 0,0407 ausmacht. Von den Unterschieden der Wägungsbestimmungen liegen 12 unter 0,03, von den zwischen Rechnung und Wägung dagegen 13. Bei den Wägungsanalysen fallen 2 Differenzen in die erste Decimale, bei den anderen sind alle Differenzen kleiner als 0,1. Dieses Ergebniss erscheint für die densimetrische Bestimmung günstig und wenn man die Zahlen bloss von dem soeben eingenommenen Standpunkt aus betrachtet, so könnte die Genauigkeit beider Methoden als nahezu gleich erscheinen.

Allein hält man die Wägungsanalyse von vornherein für die verlässlichere Methode, wie man ja auch nicht anders kann, so fällt der Vergleich zu Ungunsten des densimetrischen Verfahrens aus. Denn von den berechneten Eiweissmengen kommen zwar 5, die letzten der Tabelle, zwischen die beiden gewogenen Eiweissmengen zu liegen und ein 6. Fall (14) fällt mit dem gewogenen Minimum zusammen; aber bei den übrigen densimetrischen Bestimmungen bleiben 9 Resultate noch hinter dem Wägungsminimum zurück und übertreffen 5 noch das Wägungsmaximum, in beiden Fällen bis zu 6—7 Einheiten in der 2. Decimale. Die zu den Wägungen gut stimmenden 6 Rechnungsresultate betreffen diejenigen Fälle, in welchen über 4 gr. Eiweiss in 100 cbcm. enthalten waren; bei diesen sind die Abweichungen zwischen Wägungsmittel und Rechnung relativ gering und man könnte daher auf den Gedanken verfallen, die bessere Uebereinstimmung sei deshalb zu Stande gekommen, weil die Fehler in den Wägungsbestimmungen relativ kleiner, die Bestimmungen selbst aber richtiger geworden seien. Diese Voraussetzung ist jedoch thatsächlich falsch, denn diese 6 Bestimmungen sind nicht besser ausgefallen, als die übrigen, von ihnen gehören zwei sogar zu den ungenauesten. Die mangelhafte Uebereinstimmung zwischen Wägung und Rechnung bei den übrigen 14 Fällen lässt sich also nicht auf die Abweichungen der einzelnen Wägungsbestimmungen von einander schieben. Auch wenn eine bessere Uebereinstimmung dieser zu erreichen wäre, würde sich für

die densimetrische Methode im Grossen und Ganzen kein günstigeres Endergebniss herausgestellt haben.

Das densimetrische Verfahren liefert also — nach den von mir befolgten Rechnungsweisen — keine mit denen der Wägungsanalyse sehr gut stimmenden Resultate. Im Grunde genommen konnte es ja auch nicht anders sein. Bei der Aufstellung der zur Rechnung dienenden Formeln geht man von Voraussetzungen aus, welche den wirklichen Verhältnissen nicht genau, sondern nur annähernd entsprechen, wie das namentlich bei den Versuchen zur Berechnung von $v_2$ sehr deutlich ersichtlich ist. Dort wurde von den in der Budde-schen Gleichung enthaltenen Momenten $v - v_1$ willkürlich vernachlässigt und auf x konnte der Natur der Sache nach gar keine Rücksicht genommen werden.

Der Wägungsanalyse ist die densimetrische Methode also keineswegs gleich zu setzen, sie liefert nur Näherungswerthe und es kommt nun ganz auf die bei der Eiweissbestimmung angestrebte Genauigkeit an, ob man wägen soll oder rechnen darf.

Dazu kommt noch Eins. Es könnte scheinen, als ob die densimetrische Eiweissbestimmung vor der Wägung einen geringeren Aufwand an Zeit und geringere Anforderungen an die wissenschaftliche Technik voraushabe. Man könnte sich wenigstens vorstellen, man erfahre das Resultat früher als bei der Wägung. Wenn man aber die Dichtebestimmung vornimmt mit dem Sprengel'schen Pyknometer unter Beobachtung aller der Bedingungen, welche allein die Bestimmung richtig ausfallen lassen, dann kann von diesen Vortheilen nicht mehr die Rede sein. Auch an Zeit wird nur unwesentlich gewonnen. Die gewichtsanalytischen Eiweissbestimmungen dauern allerdings bei Anwendung von Papierfiltern lange, weil die Gewichtsconstanz erst nach viele Tage langem Trocknen erreicht wird. Bedient man sich dazu jedoch der neuerdings aufgekommenen Glaswollfilter, so nimmt das Eiweiss schon nach 24stündigem Trocknen bei 110—120° nicht mehr an Gewicht ab.

Nur dann hätte man einen Vortheil vor der densimetrischen Methode, wenn man die Dichtebestimmung mit dem Aräometer vornähme. Dasselbe muss aber so construirt sein, dass man die vierte Decimale noch mit Sicherheit ablesen kann, und ausserdem muss es einer sorgfältigen Aichung unterzogen werden. Denn selbst aus besten Werkstätten hervorgegangene Aräometer sind nicht absolut verlässlich. Verbessert wird die Methode dadurch nicht, sie büsst vielmehr noch an Genauigkeit ein. Aber man gelangt denn doch erheblich schneller zum Ziele, und wo Eiweissschätzungen genügen, in welchen die Decigramme noch richtig sind, die Centigramme dagegen falsch, da wird man sich der densimetrischen Methode mit Vortheil bedienen können.

# Ueber die densimetrische Bestimmung des Eiweisses im Harn.

Von

**Dr. H. Záhoř,**

Physikus der kgl. Hauptstadt Prag, k. k. Sanitätsrath.

---

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität in Prag.)

(Der Redaction zugegangen am 20. April 1888.)

Als ich vor sechs Jahren die vorliegende Untersuchung unternahm, lag der Wunsch nach einer leicht und schnell ausführbaren, aber noch möglichst approximativen Bestimmung des Eiweisses im Harn noch näher als jetzt. Unterdess hat sich in den Kliniken das Esbach'sche Verfahren eingebürgert und ist die Roberts-Stolnikoff'sche Methode von Hammarsten und seinen Schülern einer sorgfältigen Prüfung unterzogen worden. Wenn ich gleichwohl meine Erfahrungen noch veröffentliche, so hat das seinen Grund in dem Ergebniss, dass die nach der densimetrischen Methode ausgeführten Eiweissbestimmungen den Resultaten der Wägungsanalyse noch weit näher kommen, als die nach den beiden anderen Verfahrungsweisen erlangten.

Die Methode, das in einer Eiweisslösung, speciell im Harn befindliche Eiweiss aus der Dichteabnahme zu berechnen, welche bei der Entfernung des Eiweisses aus der Flüssigkeit eintritt, ist bekanntlich von Lang[1]) ersonnen worden.

---

[1]) G. Lang, Orvosi Szemle (Ungarische med. Zeitschr.), 2. Jahrgang, Pressburg 1862. — Von der Lang'schen Abhandlung hat Herr Prof. Genersich in Klausenburg in zuvorkommender Weise Herrn Prof. Huppert einen ausführlichen Auszug zur Verfügung gestellt, wofür ihm auch an dieser Stelle der verbindlichste Dank ausgesprochen wird.

Häbler[1]) sowie Bornhardt[2]) haben das Verfahren einer Prüfung unterzogen. Alle drei Autoren nehmen an, dass der Faktor, mit welchem man die Dichteabnahme zu multipliciren habe, wenn man die Eiweissmenge finden wolle, eine constante Grösse sei.

Gegen die Richtigkeit dieser Annahme hat aber Budde[3]) die schwerwiegendsten theoretischen Bedenken geltend gemacht, deren Tragweite für die praktische Ausführung des Verfahrens ermittelt sein musste, bevor an die Ausführung des Princips gedacht werden konnte. Nachdem nun in der von Prof. Huppert und mir veröffentlichten Untersuchung die theoretische Seite der Frage klar gelegt worden ist, lässt sich ein Urtheil über die Anwendbarkeit des Verfahrens auf die Bestimmung des Eiweisses auch im Harn gewinnen.

Unsere gemeinschaftliche Untersuchung hat ergeben, dass der Faktor in der That nicht constant ist, in der Praxis nicht als constant verwendet werden darf. Das gilt wenigstens von Flüssigkeiten, welche reich an Eiweiss sind und bei welchen die Dichteabnahme eine beträchtliche ist. Wie sich in dieser Hinsicht der Harn verhalte, musste eine besondere Untersuchung lehren.

Zu diesem Zwecke habe ich in 14 natürlichen Eiweissharnen das Eiweiss nach der bereits S. 469 beschriebenen Methode bestimmt. Ausserdem wurde die Dichte der Harne vor und nach der Entfernung des Eiweisses ermittelt, wobei von dem dort geschilderten Verfahren insofern abgewichen wurde, als zu diesen Bestimmungen zwar ein Sprengel'sches Pyknometer, aber ohne eingeschmolzenes Thermometer verwendet wurde. Ferner hatte der Harn im Pyknometer die Zimmertemperatur und die Dichte wurde nachträglich auf eine Temperatur von 17,5 reducirt, wobei der Ausdehnungscoëfficient des Harnes gleich dem des Wassers angenommen wurde.

---

[1]) M. Häbler, Archiv f. Anatomie etc., 1868, S. 397.
[2]) A. Bornhardt, Berliner klin. Wochenschr., 1869, No. 34, S. 364.
[3]) Budde, Bibliothek for Laeger, Bd. 20, 1870.

Die dabei erlangten Resultate theile ich in folgender Tabelle mit.

In derselben bedeutet vx = gr. Eiweiss in 100 cbcm., v die Anfangs-, $v_1$ die Enddichte und $v - v_1$ die Dichteabnahme. Unter f findet sich der für vx aus den Analysendaten berechnete Faktor.

**Tabelle I.**

| | vx | v | $v_1$ | $v - v_1$ | f |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,0631 | 0,014533 | 0,014144 | 0,000119 | 530,3 |
| 2 | 0,0868 | 10766 | 10551 | 215 | 403,7 |
| 3 | 0,1546 | 12778 | 12382 | 396 | 390,4 |
| 4 | 0,2473 | 10068 | 09500 | 568 | 435,4 |
| 5 | 0,2960 | 13558 | 12909 | 649 | 456.1 |
| 6 | 0,2986 | 10771 | 10030 | 741 | 403,0 |
| 7 | 0,3224 | 15792 | 15010 | 782 | 412,3 |
| 8 | 0,3051 | 17175 | 16379 | 796 | 383,3 |
| 9 | 0,3540 | 16133 | 15140 | 993 | 356,5 |
| 10 | 0,3962 | 15077 | 13951 | 1126 | 351,9 |
| 11 | 0,4763 | 09106 | 07938 | 1168 | 407,8 |
| 12 | 0,4881 | 18274 | 17042 | 1232 | 396,2 |
| 13 | 0,6236 | 14626 | 13025 | 1601 | 389,5 |
| 14 | 0,7634 | 11044 | 09094 | 1950 | 391,5 |

Es wurden nun weiter mit den beiden von Prof. Huppert aufgestellten Formeln (5) und (1) zunächst die Faktoren und aus diesen die Eiweissmengen vx berechnet; nach (5) ergiebt sich direct:

$$f = 351{,}4 + 911{,}4(v - 1) + 833{,}2(v_1 - 1).$$

Für $f = \frac{100\, v_2}{v_2 - v_1}$ wurde $v_2$, die Dichte des Eiweisses in der Lösung, berechnet nach $v_2 = 1{,}3879 - (v_1 - 1)$. In der Formel (1) soll $v_1 - 1$ eigentlich mit $-0{,}9946$ multiplicirt werden; dieser Bruch kann aber unbeschadet der Genauigkeit $= -1$ gesetzt werden. Die Eiweissmenge vx ergiebt sich aus $f(v - v_1)$.

Die folgende Tabelle enthält unter A. die nach Formel (5) und unter B. die nach Formel (1) berechneten Werthe. Der berechnete Faktor ist mit F, die berechnete Eiweissmenge mit (vx) bezeichnet. Die

Reihe Δ giebt an, um wieviel Eiweiss mehr oder weniger berechnet als gewogen wurde.

**Tabelle II.**

| | A. | | | B. | | | C. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | F | (vx) | Δ | F | (vx) | Δ | (vx) | Δ |
| 1 | 376,78 | 0,0448 | — 0,0183 | 381,96 | 0,0455 | — 0,0176 | 0,0476 | — 0,0155 |
| 2 | 370,02 | 0,0796 | — 0,0064 | 375,59 | 0,0808 | — 0,0060 | 0,0860 | — 0,0008 |
| 3 | 373,48 | 0,1489 | — 0,0057 | 378,82 | 0,1500 | — 0,0046 | 0,1584 | + 0,0038 |
| 4 | 368,61 | 0,2094 | — 0,0379 | 373,83 | 0,2123 | — 0,0350 | 0,2272 | — 0,0201 |
| 5 | 374,63 | 0,2430 | — 0,0530 | 379,91 | 0,2466 | — 0,0494 | 0,2596 | — 0,0364 |
| 6 | 369,69 | 0,2739 | — 0,0247 | 374,71 | 0,2777 | — 0,0209 | 0,2964 | — 0,0028 |
| 7 | 378,41 | 0,2959 | — 0,0265 | 383,79 | 0,3001 | — 0,0223 | 0,3128 | — 0,0096 |
| 8 | 380,81 | 0,3031 | — 0,0021 | 386,23 | 0,3074 | + 0,0034 | 0,3184 | + 0,0133 |
| 9 | 378,83 | 0,3762 | + 0,0222 | 383,97 | 0,3813 | + 0,0273 | 0,3972 | + 0,0432 |
| 10 | 376,88 | 0,4244 | + 0,0284 | 381,75 | 0,4299 | + 0,0337 | 0,4504 | + 0,0544 |
| 11 | 366,33 | 0,4279 | — 0,0484 | 371,07 | 0,4357 | — 0,0406 | 0,4672 | — 0,0091 |
| 12 | 382,38 | 0,4711 | — 0,0170 | 387,55 | 0,4776 | — 0,0105 | 0,4928 | + 0,0047 |
| 13 | 375,70 | 0,6049 | — 0,0187 | 380,09 | 0,6085 | — 0,0151 | 0,6404 | + 0,0168 |
| 14 | 369,18 | 0,7199 | — 0,0444 | 373,13 | 0,7276 | — 0,0358 | 0,7800 | + 0,0166 |

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass die Abweichungen der nach beiden Formeln berechneten Eiweissmengen die zweite Decimale nicht überschreiten. Die Werthe unter B sind noch etwas besser als die unter A, insoferne als bei B eine Differenz von 0,05 nur nahezu erreicht, bei A dagegen einmal überschritten und einmal gleichfalls nahezu erreicht wird. Die mittlere Abweichung beträgt bei A ± 0,0253, bei B ± 0,0230. Auffällig ist, dass nach beiden Berechnungsarten die negativen Abweichungen in grösserer Zahl auftreten als die positiven, was bei den in der ersten Abhandlung mitgetheilten, nach denselben Formeln berechneten Resultaten nicht der Fall war. Diese Erscheinung erklärt sich in befriedigender Weise aus der Löslichkeit des Glases in Wasser und der daraus folgenden Dichtezunahme. So nahm die Dichte eines eiweissfreien Harns, der in einem verschlossenen Fläschchen 15 Minuten in siedendem Wasser verweilte, um 0,000054 zu, die eines anderen Harns bei 25 Minuten langem Kochen um 0,000182. Diese Dichtezunahmen entsprechen, mit einem

Faktor von 400 berechnet, —0,0216 und —0,0728 Eiweiss in 100 cbcm. Auch bei den eiweissreichen Lösungen sind Fehler von der beiläufigen Grösse des ersteren aufgetreten; sie sind dort durch die Rechnung ausgeglichen worden; bei den eiweissärmeren Harnen fielen sie aber relativ mehr in's Gewicht und machten sich deshalb bei der Berechnung nach den Formeln noch geltend.

Endlich wurde noch untersucht, zu welchen Ergebnissen man mit der Verwendung eines constanten Faktors gelangt.

Das arithmetische Mittel des aus den Beobachtungen abgeleiteten Faktors für vx beträgt 407,7 und, wenn die zwei hohen Werthe der Beobachtungen 1 und 5 weggelassen werden, 393,4; die Berechnungen wurden mit dem gemeinschaftlichen Faktor 400 vorgenommen.

Die gefundenen Werthe sind in der Tabelle II unter C eingetragen. Die mittlere Abweichung beträgt hier nur ±0,0175; im Ganzen sind die Resultate also noch besser, als die nach den Formeln berechneten, auch vertheilen sich die negativen und die positiven Abweichungen gleichmässiger, einzelne Differenzen sind aber ebenso gross, als bei den nach den Formeln berechneten Zahlen. Die grössten Differenzen betragen 0,0432 und 0,0544.

Zu einem ganz gleichwerthigen Resultate gelangt man, wenn man in den Analysen meiner Vorgänger die Eiweissmengen mit denjenigen constanten Faktoren berechnet, welche sich aus ihren Bestimmungen ergeben.

Lang hat mit Harn 8 Untersuchungen ausgeführt. Der Faktor ist rund 370; die berechneten Eiweissmengen weichen von den gewogenen im Mittel um ±0,0194 ab; die Differenzen bewegen sich zwischen 0,0025 und 0,0305.

Der Bornhardt'sche Faktor ist, richtig berechnet, 435. Die mittlere Abweichung seiner 15 Beobachtungen beträgt ±0,0185, die Grenzwerthe sind 0,0020 und 0,0495.

Aus Budde's Zahlen lässt sich ein Faktor 420 ableiten. Wiewohl Budde die Gewichte des gefundenen Eiweisses meist nur bis zur zweiten Decimale angiebt, beträgt die mittlere Differenz doch nur ±0,0324.

Die einzelnen Abweichungen liegen zwischen 0,006 und 0,084 und unter seinen 20 Bestimmungen übertrifft der Unterschied zwischen Rechnung und Wägung nur 4 mal 0,05.

Während also bei den eiweissreichen Lösungen ein constanter Faktor ungenügende Resultate ergab, erlangt man bei den eiweissarmen Harnen recht brauchbare Zahlen und es darf somit bei der densimetrischen Bestimmung des Eiweisses im Harn ein constanter Faktor benützt werden. Wiewohl der Faktor an sich keine constante Grösse ist, kommt man, wenn man ihn als constant annimmt, ebenso weit, als wenn man ihn für jeden einzelnen Fall berechnet, und erspart sich ausserdem diese, wenn auch einfache, doch immerhin umständliche Berechnung.

Dass beim Harn ein constanter Faktor anwendbar ist, bei den Eiweisslösungen dagegen nicht, ist leicht einzusehen. Der Faktor muss mit der Dichtedifferenz multiplicirt werden. Bei den Eiweisslösungen bewegte sich diese zwischen 0,0016 und 0,0128, während sie bei den Harnen nur 0,00012 bis 0,0020 betrug; die Differenz war bei den Eiweisslösungen 6 bis 13 mal so gross, als bei den Harnen, und um so viel mal grösser musste dort auch der Fehler sein, welcher bei der Verwendung eines constanten Faktors eintritt. Beim Harn dagegen ist dieser Fehler so klein, dass er nicht mehr in Betracht kommt.

Darnach kann das theoretisch sehr wohl begründete Bedenken Budde's gegen die Verwendung eines constanten Faktors für die Berechnung des Eiweisses in so eiweissarmen Lösungen wie der Harn als behoben und die Methode an sich als begründet angesehen werden.

Was jetzt nur noch in Frage kommen kann, ist die Wahl oder die Grösse des Faktors.

Da der Faktor der Quotient ist aus der Eiweissmenge und der Dichtedifferenz, so wird er verschieden ausfallen je nach der Art, wie diese beiden Grössen bestimmt worden sind; derjenige Faktor wird der richtigere sein und diesen wird man zu den Berechnungen wählen müssen, bei welchem diese Bestimmungen den relativ grössten Grad der Genauigkeit erreichen.

Es liegen nun mehrere Faktoren vor, unter welchen man die Auswahl zu treffen hat.

Häbler hat ihn zu 210 gefunden, aus den Beobachtungsdaten von Lang berechnet er sich zu 366,8, aus denen von Bornhardt[1]) zu 435, aus denen von Budde zu 421. Ich selbst habe mit dem Faktor 400 gerechnet.

Der Häbler'sche Faktor ist entschieden falsch. Wie Häbler zu dieser unrichtigen Zahl gekommen ist, ist aus den von Häbler gelieferten Angaben nicht zu erkennen und der Faktor kann somit auch nicht richtig gestellt werden. Dagegen lässt sich leicht erklären, warum die Faktoren von Bornhardt und von Budde von dem meinigen abweichen.

Beide Autoren haben den Harn zur Coagulation des Eiweisses in Gefässen gekocht, denen ein einfaches Glasrohr zur Condensation des Wasserdampfes aufgesetzt war, ein dazu offenbar ganz unzureichendes Mittel. Das Entweichen von Wasserdampf ist dadurch nicht ausgeschlossen gewesen und es muss deshalb die Dichte des Harnfiltrats zugenommen haben. Auch geben sie nicht an, dass sie den coagulirten Harn beim Filtriren vor dem Verdunsten geschützt haben. Beide Momente führen zu einer Verminderung der Dichtedifferenz. Nun berechnet man den Faktor, indem man die Eiweissmenge durch die Dichtedifferenz dividirt; wenn aber die Differenz zu klein ist, muss der Faktor zu gross ausfallen.

Um ein Urtheil über die Grösse des Wasserverlustes beim Kochen mit einem Condensationsrohr zu gewinnen, wurden 200 cbcm. Wasser genau so behandelt, wie es Bornhardt vom Harn beschreibt. Der Kolben stand dabei nur 10 Minuten über der Flamme und das Wasser wurde nur $^1/_2$ Minute in schwachem Sieden erhalten. Dabei wurde ein Gewichtsverlust von 0,450 gr., also etwas über 0,2 % nachgewiesen; hätte es sich um ein Harnfiltrat von 1,012 Dichte gehandelt, so wäre seine Dichte in Folge des Wasserverlustes auf 1,012024 und der Faktor von 400 auf 411 gestiegen.

Auf die Grösse des Faktors hat ferner die Behandlung des Eiweissniederschlags einen wesentlichen Einfluss. Budde giebt in dieser Hinsicht an, dass er bei der Eiweissbestimmung ganz nach der Vorschrift von Neubauer verfahren sei. Diese lautete dahin, dass man den Niederschlag im Wasserbad, also noch unter 100° zu trocknen habe und

---

1) Bornhardt giebt den Faktor zu 415 an; derselbe ist aber unrichtig berechnet. Die Summe der gewogenen Eiweissmengen beträgt richtig 8,313; die Summe der Differenzen aber nicht, wie Bornhardt angiebt, 0,0200, sondern 0,0191. Es ist aber 8,313 : 0,0191 = 435.

ein 6—8stündiges Trocknen sei ein sehr langes; das ist offenbar ganz ungenügend; ich dagegen habe das Eiweiss richtiger bei 120° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet. Es kann daher keinem Zweifel unterliegen, dass nach Neubauer's Vorschrift getrocknetes Eiweiss erheblich mehr Wasser enthält, also schwerer ist, als bei 120° getrocknetes. Der Quotient aus dem Eiweissgewicht durch die Dichteabnahme wird dann gleichfalls grösser. Würde der Unterschied im Trockengewicht für $^1/_3$—$^1/_2$ gr. Eiweiss einige Centigramme ausmachen, was sehr wohl möglich ist, so würde dieser Umstand allein ausreichen, die Verschiedenheit der Faktoren zu erklären. Auch ungenügendes Auswaschen des Niederschlags erhöht sein Gewicht und damit den Faktor.

Bornhardt macht gar keine Angaben über das bei der Gewichtsanalyse des Eiweisses eingehaltene Verfahren; er scheint es als bekannt vorausgesetzt zu haben und man wird die Vermuthung nicht als unbedingt falsch zurückweisen dürfen, dass auch er einer ähnlichen, mangelhaften Vorschrift, wie die Neubauer'sche, gefolgt ist.

Lang hat die Coagulation unter Verhinderung der Verdunstung vorgenommen; dieser Fehler ist also ausgeschlossen. Seine Bestimmungen sind aus einem anderen Grunde mangelhaft ausgefallen. In 4 Fällen betrug nämlich die Dichteabnahme 0,00125 für jeden einzelnen Fall bei 0,4320 und 0,4960 gr. Eiweiss, in zwei anderen Fällen war die Dichteabnahme 0,00100 und das Eiweiss machte 0,3608 und 0,3924 gr. aus. Eine solche Gleichheit der Dichteabnahme bei so verschiedenen Eiweissmengen ist entschieden nicht die Regel und man darf daher wohl annehmen, dass die Eiweissbestimmungen, oder, was wahrscheinlicher ist, die Dichteabnahmen, unrichtig bestimmt worden sind. Lang hat die Dichtebestimmungen mit einem Aräometer vorgenommen, auf welchem nur noch Viertel der 4. Decimale abgelesen werden konnten.

Von diesem Fehler sind die Bestimmungen von Budde auch nicht frei. Budde bediente sich dazu bei zwei Bestimmungsreihen eines gewöhnlichen, aber genauen Urometers, bei einer dritten Reihe bestimmte er eine Decimale mehr. Die Zahlen der beiden ersten Reihen führen zu den Faktoren 424 und 458, die der dritten Reihe dagegen zum Faktor 405.

Die Faktoren, welche meine Vorgänger aufgestellt haben, sind also nach ungenauen Methoden ermittelt worden. Von Eiweiss, welches nur einige Stunden im Wasserbad getrocknet worden ist, wird man nicht sagen können, dass es trockenes Eiweiss vorstellt, und aräometrische Dichtebestimmungen können nicht den Grad der Genauigkeit erreichen, selbst wenn die Instrumente richtig geaicht sind, als Dichte-

bestimmungen mit dem Sprengel'schen Pyknometer. Bei meiner Ermittelung des Faktors habe ich mich von diesen Fehlern möglichst ferne gehalten; die Dichte ist mit dem Sprengel'schen Pyknometer bestimmt, das Eiweiss vollständig ausgewaschen und vollständig getrocknet worden und daher darf der von mir aufgestellte Faktor (400) auch Anspruch auf grössere Genauigkeit machen. Er weicht überdies nur wenig von dem bei den Analysen der Eiweisslösungen gefundenen mittleren Faktor 383 ab.

Wenn die Rechnung mit unrichtigen Faktoren demnach brauchbare Resultate liefert, wie sich das oben (S. 488) gezeigt hat, so ist ein solches Ergebniss zwar ein Beweis für den Werth der Methode an sich, aber es beweist nichts für die Richtigkeit der Faktoren.

Man darf dabei nur nicht übersehen, dass ein aus unrichtigen Beobachtungsdaten abgeleiteter Faktor bei der Umkehrung der Rechnung ja, wenn nur die Methode richtig ist, Zahlen liefern muss, welche mit den unrichtigen Daten wieder nahezu zusammentreffen können.

Für die Gewinnung blos vergleichbarer Werthe ist es schliesslich gleichgiltig, mit welchem Faktor gerechnet wird; es kommt nicht einmal darauf an, wie der Faktor empirisch ermittelt wurde. Man brauchte sich nur über einen bestimmten Faktor zu einigen. Wenn man ihn aber aus den Beobachtungen ableitet, also offenbar die Absicht hat, der Wahrheit möglichst nahe zu kommen, wird man dem richtiger bestimmten Faktor den Vorzug geben müssen.

Mit dem Faktor 400 lässt sich also beim Harn aus der Dichteabnahme der Gehalt an bei 120° trockenem Eiweiss für 100 cbcm. mit einem mittleren Fehler von $\pm 0{,}0175$ berechnen. Es bleibt nun noch übrig, diese Genauigkeit mit derjenigen zu vergleichen, welche mit den beiden anderen Methoden der annäherungsweisen Bestimmung des Eiweisses im Harn erreicht wird.

Ueber die Genauigkeit der Methode von Roberts-Stolnikoff liegen zwei Reihen von Bestimmungen vor.

welche Hammarsten mit Brandberg[1]) und anderen seiner Schüler ausgeführt hat. Die Wägungsbestimmungen des Eiweisses sind von Hammarsten selbst ausgeführt worden. Beide Reihen haben nahezu dasselbe Resultat ergeben. In der einen Reihe differirten die Wägungen von den approximativen Bestimmungen unter 23 Bestimmungen 15 mal um weniger, 8 mal um mehr als 0,05; 6 mal fielen die Differenzen in die erste Decimale. In der zweiten Reihe lagen die Fehler unter 45 Bestimmungen 33 mal unter, 12 mal über 0,05 und 6 mal betrafen sie die erste Decimale. Die Differenz erreichte selbst 0,3. Wie bereits mitgetheilt, überschritten bei der densimetrischen Methode die Abweichungen dagegen nur selten 0,05 und erreichten die erste Decimale in keinem Fall.

Die Esbach'sche Methode lässt ihrem Wesen nach nur eine Schätzung des Eiweisses zu und kann zu sehr unrichtigen Ergebnissen führen, namentlich dann, wenn die Cautelen, unter welchen sie ausgeführt werden soll (Dichte des Harns, Eiweissgehalt, Temperatur), ausser Acht gelassen werden. Aber auch wenn man diese berücksichtigt, kommen nicht selten Abweichnngen bis in die erste Decimale vor. Es kann somit keinem Zweifel unterliegen, dass die Lang'sche Methode der Eiweissbestimmung im Harn noch genauer ist, als die beiden anderen approximativen Methoden, und dass sie vor den anderen den Vorzug verdient.

Das Verfahren, nach welchem man zu arbeiten hat, ist sehr einfach.

Man versetzt zunächst, wenn es nöthig ist, den filtrirten Harn mit so viel verdünnter Essigsäure, dass beim Kochen alles Eiweiss abgeschieden wird. Um dies zu erfahren, taucht man ein Reagensglas mit einer Probe des Harnes zuerst einige Zeit in siedendes Wasser und kocht dann über der Flamme auf; das Filtrat darf auf Zusatz von Essigsäure und Ferrocyankalium keinen Niederschlag und keine Trübung mehr geben. Von dem so hergerichteten Harn wird die Dichte

---

1) F. Brandberg, Jahresbericht für Thierchemie, 1880, S. 265. — Hammarsten, daselbst, 1883, S. 217.

bestimmt. Ausserdem dient er zur Coagulation des Eiweisses: dazu füllt man so viel, als man zur Dichtebestimmung des Filtrats braucht, in eine Medicinflasche und bindet in ihre Mündung einen Kautschukpfropf mit Bindfaden fest ein. Der Stöpsel ist vorher mit Natronlauge ausgekocht und mit Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction gewaschen worden. Solche Stöpsel richtet man sich mehrere auf einmal zu. Man hängt dann das Glas in einen Topf mit Wasser, erhitzt das Wasser zum Sieden, lässt das Glas 10—15 Minuten im siedenden Wasser, nimmt es dann heraus und lässt es erkalten. Die Medicinflasche darf nicht ganz gefüllt werden, weil sie sonst springt.

Hat man eine Waage zur Verfügung, die nicht genauer zu sein braucht, als eine Tarawaage, wie sie die Apotheker benützen, so gestaltet sich die Coagulation einfacher. Es wird die Flasche mit dem Harn vor dem Kochen offen gewogen, unverschlossen erhitzt und dann nach dem Kochen, wenn sie erkaltet ist, wieder gewogen. Den Gewichtsverlust ersetzt man durch destillirtes Wasser.

Nach der Coagulation filtrirt man durch ein Faltenfilter. Um dabei die Verdunstung zu verhindern, durch welche das Filtrat concentrirter werden würde, befestigt man den Trichter mittelst eines durchbohrten Korkes in einer Flasche und hält ihn mit einer Glasplatte bedeckt.

Nun ist noch die Dichte des Harns und des Filtrats zu bestimmen. Sich dazu des Sprengel'schen Pyknometers zu bedienen, hiesse die Methode selbst illusorisch machen; denn solche Dichtebestimmungen erfordern Zeit, grosse Uebung in dergleichen Arbeiten und eine gute analytische Waage.

Es ist aber dabei auch nicht nöthig, dass man mit der Genauigkeit vorgeht, wie bei der Ermittelung des Faktors. Für die blosse Bestimmung der Eiweissmenge zu klinischen Zwecken reichen Aräometer aus, jedoch nur dann, wenn man mit ihnen die vierte Decimale noch bestimmen kann. Für das Intervall von 0,01 Dichte braucht man immer eine Spindel. Gewöhnliche Urometer genügen dazu nicht. Solche Aräometer

sind jetzt nicht im Handel, aber sie lassen sich anfertigen und werden, wenn sie einmal in Gebrauch sind, auch zu mässigen Preisen zu haben sein. Unerlässlich jedoch ist es, dass man sie auf ihre Richtigkeit nachprüft.

Bei der Dichtebestimmung ist es vor Allem nöthig, dass der Harn und das Filtrat dieselbe Temperatur besitzen; dass die Temperatur genau 17,5° sei, ist nicht durchaus erforderlich. Um beiden Flüssigkeiten die gleiche Temperatur zu geben, stellt man am besten zwei Cylinder, von denen der eine den Harn, der andere das Filtrat enthält, neben einander in ein grosses Gefäss mit Wasser. Das Aussenwasser ist dabei fortwährend in Bewegung zu halten. Ist die Temperatur in beiden Cylindern gleich, so liest man die Dichte ab, subtrahirt und multiplicirt die Differenz mit 400. Das Product giebt an, wie viel gr. Eiweiss der Harn in 100 cbcm. enthält.

Herrn Prof. Huppert, der mich bei der Ausführung dieser Arbeit vielfach unterstützt hat, sage ich meinen besten Dank.

# Ueber die Haycraft'sche Methode der Harnsäurebestimmung im Harne.

Von

**Dr. August Herrmann.**

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität in Prag.)

(Der Redaction zugegangen am 20. April 1888.)

Haycraft[1]) hat eine Methode beschrieben, nach welcher sich die Harnsäure im Harne durch Titriren quantitativ bestimmen lässt. Da der Werth einer Methode davon abhängt, welche Genauigkeit die durch sie erlangten Resultate besitzen, darüber aber von der Haycraft'schen Methode nichts bekannt ist, so theile ich einige vergleichende Harnsäurebestimmungen mit, welche ich bei Gelegenheit einer anderen Untersuchung nach dieser und der Ludwig'schen[2]) Methode ausgeführt habe.

Nach Haycraft trägt man in 25 cbcm. Harn etwa 1 gr. doppeltkohlensaures Natron in Substanz ein, macht ihn mit Ammoniak stark alkalisch und fügt etwas ammoniakalische Silberlösung hinzu. Den Harnsäureniederschlag filtrirt man auf einem aus Glasscherben und Asbest zusammengestellten Filter mittelst einer Saugpumpe ab, wäscht ihn silberfrei, löst ihn darauf auf dem Filter in Salpetersäure von 20—30%, die durch Kochen von salpetriger Säure befreit ist, wäscht die Lösung aus dem Filter und titrirt in der Lösung das Silber nach Volhard mit

1) John B. Haycraft. British med. Journal, December 12, 1885, p. 1100; in deutscher Uebersetzung Zeitschr. f. analyt. Chemie, 1886, S. 165.

2) Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Harnsäure. Wiener medic. Jahrbücher, 1884.

Centinormal-Rhodanlösung. Die Zahl der verbrauchten cbcm. Rhodanlösung mit 0,00168 multiplicirt giebt die Menge der in 25 cbcm. Harn enthaltenen Harnsäure in gr. an.

Der Zusatz von doppeltkohlensaurem Natron zu dem Harne hat nach Haycraft den Zweck, die sonst unvermeidliche Reduction von Silber zu verhindern.

Zunächst möchte ich bemerken, dass der Zusatz von doppeltkohlensaurem Natron die beim Zusammenbringen von Harn mit ammoniakalischer Silberlösung auftretende Reduction des Silbers vielleicht verzögert, aber nicht verhindert. Lässt man Harn nach Zusatz von ammoniakalischer Silberlösung und doppeltkohlensaurem Natron in den Mengenverhältnissen, wie sie Haycraft angiebt, einige Zeit (1—2 Stunden nur) stehen, so zeigt sich der Niederschlag von reducirtem Silber braunschwarz bis schwarz gefärbt. Diese Reduction kann nicht der Wirkung des Lichtes allein zugeschrieben werden, denn sie tritt auch beim Stehen der Mischung im Dunkeln ein. Entscheidend scheint mir für die Entstehung der Silberreduction nur die Zeitdauer der Einwirkung des Harnes auf die ammoniakalische Silberlösung. Gelingt es, den entstandenen Niederschlag von harnsaurem Silber schnell und vollständig abzufiltriren, so bleibt der Niederschlag vollkommen weiss oder gelblich, während sich das Filtrat schwärzt[1]).

In der Beförderung der Filtrationsgeschwindigkeit möchte ich den Hauptvortheil des Zusatzes von doppeltkohlensaurem Natron erkennen. 1 gr. doppeltkohlensauren Natrons zu 25 cbcm. Harn gefügt löst sich auch nach Zusatz von 2—3 cbcm. starkem Ammoniak nicht sofort vollständig, sondern das Salz wird mit dem Niederschlage mit auf das Filter gebracht, lockert bei seiner krystallinischen Beschaffenheit den gelatinösen Silberniederschlag, wird beim Auswaschen

---

1) Die Schwärzung rührt also nicht bloss von der Oxydation der Harnsäure durch das Silberoxyd her, sondern auch von einer Reduction des Silberoxyds durch andere Harnbestandtheile; der schwarze Niederschlag dürfte übrigens auch Schwefelsilber beigemengt enthalten.

desselben gelöst und macht so den Niederschlag rissig, was das Auswaschen beschleunigt.

Denselben Zweck erreicht man, wenn man in dem Harn nach Ludwig einen Tripelphosphatniederschlag erzeugt.

Dem Filter habe ich eine andere bequemere Gestalt gegeben. In einen kleinen Glastrichter wurde zunächst ein siebförmig durchlochtes, rundes Platinblech von 2 cm. Durchmesser gelegt, darüber kam eine ganz dünne Schichte Glaswolle, und auf diese feinfaseriger, mit Wasser geschüttelter Asbest. Letzterer wurde mit den Fingern so an die Trichterwand und an das Platinblech angedrückt, dass er einen muldenförmigen, festen Filz bildete, von welchem jeder Niederschlag beim Filtriren zurückgehalten wurde. Die dünne Lage Glaswolle verhinderte, dass bei der Anwendung der Saugpumpe der Asbest in die Löcher des Platinbleches eindrang und dieselben verstopfte. Filtrirt wurde stets mit Zuhilfenahme der Wasserpumpe, nur beim Auswaschen, wenn der Niederschlag schon rissig geworden war, stellte ich die Pumpe ab, damit nicht Theile des Niederschlages verloren gingen, und benützte sie nur zum Absaugen der letzten Tropfen der aufgegossenen Waschflüssigkeit. Ein solches Filter lässt sich wiederholt benützen.

Bei der Ausführung des Verfahrens bin ich noch in folgenden Punkten von der Vorschrift Haycraft's abgewichen.

Ich habe die Harnsäure nicht aus 25, sondern aus 50 cbcm. Harn gefällt, weil dabei die Bestimmung genauer wird. Den Niederschlag habe ich erzeugt mit je 5 cbcm. der von Ludwig angegebenen Silberlösung und Magnesiamischung. Für den Zusatz des doppeltkohlensauren Natrons fand ich 4 gr. für 50 cbcm. Harn zweckmässiger, als nach Haycraft bloss 2 gr. Auf Silber habe ich das Filtrat nicht wie Haycraft mit Chlornatrium, sondern mit Salzsäure geprüft, weil das Chlornatrium in der ammoniakalischen Flüssigkeit keinen Niederschlag von Chlorsilber zu geben braucht. Das gelöste Silber habe ich mit Fünfzigstelnormal-Rhodanlösung titrirt, weil dabei die Endreaction sicherer

erkannt wird, als mit Hundertstelnormallösung; man hat dann die Zahl der verbrauchten cbcm. Rhodanlösung mit 0,00336 zu multipliciren. Wenn man den Endpunkt überschritten hat, so ist es zweckmässig, ihn nach Zusatz einer abgemessenen Menge Fünfzigstelnormal-Silberlösung auf's Neue zu bestimmen.

Es ist ist nicht nöthig, den Harnsäureniederschlag vollständig auf das Filter zu bringen, es genügt, das Becherglas nachzuwaschen und die in ihm haften gebliebenen Reste mit in der Salpetersäure zu lösen.

Ist das verwendete Natriumbicarbonat nicht chlorfrei, so muss es vollständig weggewaschen werden, weil das ihm beigemengte Chlornatrium beim Lösen des Niederschlages einen Theil des Silbers fällt und so der Titrirung entzieht.

Den Harnsäureniederschlag hat man mit schwach ammoniakhaltigem Wasser silberfrei zu waschen.

Nach dem Lösen des Niederschlages in Salpetersäure wäscht man erst mit stark verdünnter Salpetersäure, dann bis zum Verschwinden der sauren Reaction mit Wasser. Alle diese Operationen werden mit Hilfe der Saugpumpe vorgenommen.

Trotz der anscheinenden Umständlichkeit des Verfahrens braucht die Zeitdauer vom Filtriren des Niederschlages bis zum Lösen desselben eine halbe Stunde nicht zu überschreiten.

Es wurde nun in 19 Harnen die Harnsäure je zweimal nach dem geschilderten Verfahren und ebenso wieder paarweise nach Ludwig bestimmt. Ausgenommen No. 7 und 12, wo durch zu starkes Absaugen in je einer der Controlbestimmungen ein Theil des Niederschlages durch's Filter ging, fielen die Doppelbestimmungen nach Haycraft's Methode absolut gleich aus. Die mit je 100 cbcm. Harn vorgenommenen Parallelbestimmungen nach Ludwig differiren unter einander um $\pm 0,00038$ gr.

Es fand sich in 100 cbcm. Harn in gr. nach Haycraft und Ludwig[1]):

| Nummer. | Haycraft. | Ludwig. | Differenz. |
|---|---|---|---|
| 1 | 0,0223 | 0,0203 | + 20 |
| 2 | 0,0238 | 0,0210 | + 28 |
| 3 | 0,0302 | 0,0273 | + 29 |
| 4 | 0,0292 | 0,0286 | + 6 |
| 5 | 0,0320 | 0,0297 | + 23 |
| 6 | 0,0335 | 0,0309 | + 26 |
| 7 | 0,0336 | 0,0313 | + 23 |
| 8 | 0,0328 | 0,0314 | + 14 |
| 9 | 0,0350 | 0,0316 | + 34 |
| 10 | 0,0345 | 0,0332 | + 13 |
| 11 | 0,0347 | 0,0334 | + 13 |
| 12 | 0,0369 | 0,0340 | + 29 |
| 13 | 0,0415 | 0,0376 | + 39 |
| 14 | 0,0416 | 0,0383 | + 33 |
| 15 | 0,0432 | 0,0391 | + 41 |
| 16 | 0,0460 | 0,0401 | + 59 |
| 17 | 0,0445 | 0,0403 | + 42 |
| 18 | 0,0443 | 0,0406 | + 37 |
| 19 | 0,0462 | 0,0428 | + 34 |

Wie aus der Tabelle ersichtlich, fallen die Resultate nach Haycraft's Methode stets höher aus, als die nach Ludwig gewonnenen. Im Grossen und Ganzen kann man sagen, dass je concentrirter der Harn, desto grösser auch die Differenz. Sie beträgt durchschnittlich 0,0029 gr. für 100 cbcm. Harn oder 7,9 % der gesammten Harnsäure. Dieses Plus an Harnsäure gegenüber der Ludwig'schen Methode lässt sich nicht aus den Verlusten erklären, welche man bei dieser hat, denn derselbe beträgt nach Ludwig's eigener Angabe nur 2 %. Auch könnte man diesen Verlust nicht zur Erklärung der Differenz herbeiziehen, denn nach Bestimmungen, welche ich mit gewogenen Mengen chemisch reiner Harnsäure ausgeführt habe, verliert man nach Haycraft auch 2 % von

1) Aus den Doppelbestimmungen wird das Mittel angeführt.

der Harnsäure. Es wäre also anzunehmen, dass durch die ammoniakalische Silberlösung ausser der Harnsäure noch andere Substanzen, wie z. B. die Xanthinkörper, gefällt werden.

Bemerken muss ich noch, dass die Gegenwart von Zucker im Harne die Bestimmung der Harnsäure nach Haycraft nicht stört und dass man nicht nöthig hat, wenn Eiweiss zugegen ist, dieses vor der Fällung der Harnsäure aus dem Harn zu entfernen.

In 50 cbcm. Harn, dem 1 gr. reinen Traubenzuckers beigefügt worden war, wurden 0,0582 gr. Harnsäure gefunden, und in 50 cbcm. desselben Harns ohne Zucker dieselbe Menge.

Zweimal setzte ich verschiedenen Harnen so viel Blutserum zu, dass jeder etwa 0,5 % Eiweiss enthielt; bei directer Fällung der Harnsäure fand ich für 50 cbcm. 0,0604 gr. und 0,0408 gr., in denselben Harnen ohne Eiweiss 0,0601 gr. und 0,0404 gr.

Das Ergebniss meiner Nachprüfung lässt sich also dahin zusammenfassen, dass Haycraft's Methode im Vergleich zur Ludwig'schen zwar zu hohe Resultate giebt; wo es aber, wie bei klinischen Untersuchungen oder bei Reihen vergleichender Bestimmungen, nicht auf absolute Genauigkeit ankommt und nur eine Orientirung im Wechsel der Ausscheidungsverhältnisse der Harnsäure angestrebt wird, sie sich empfiehlt durch die leichte Ausführbarkeit und die Kürze der Zeit, welche sie in Anspruch nimmt.

# Eine Methode zur maassanalytischen Bestimmung der Harnsäure im Harne.

Von

**Dr. Friedrich Czapek,** k. k. Stabsarzt d. R.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität zu Prag.)

(Der Redaction zugegangen am 20. April 1888.)

Die Bestimmungsweise, welche ich im Folgenden beschreibe, ist, wie die von Haycraft, eine indirecte. Sie giebt, wie die Haycraft'sche Methode, gegenüber der directen Harnsäurebestimmung nach Ludwig etwas zu hohe Werthe, ungefähr um ebenso viel zu hohe, wie die Haycraft'sche. Sie unterscheidet sich aber von dieser dadurch, dass im Gegensatz zu Haycraft, welcher die Menge des im Silberniederschlage des ammoniakalisch gemachten Harnes enthaltenen Silbers titrirt, ich den in Lösung verbliebenen Rest einer zum Fällen der Harnsäure verwendeten bekannten Silbermenge maassanalytisch bestimme.

Vor dem Haycraft'schen Verfahren hat das meine den Vorzug grösserer Einfachheit in der Ausführuug, insoferne, als ohne Mithilfe der Saugpumpe filtrirt und der Niederschlag nicht ausgewaschen wird.

An Reagentien braucht man:

1. Eine Zehntel-Normal-Silberlösung. Dieselbe wird bereitet durch Auflösen von 17 gr. reinen, geschmolzenen Silbernitrats zum Liter; oder durch Titriren auf eine Zehntel-Normal-Chlornatriumlösung. Letztere erhält man, wenn man

10,1 cbcm. kalt gesättigter Steinsalzlösung auf 550 cbcm. verdünnt. Man titrirt mit der Silberlösung in die Salzlösung.

2. Magnesia-Mischung von der Concentration, wie sie Ludwig für seine Methode der Harnsäurebestimmung vorschreibt. (Mit 100 gr. Chlormagnesium im Liter.)

3. Schwefelkalium-(oder Schwefelnatrium-) Lösung, welche aus der Ludwig'schen Lösung durch Verdünnen auf's zehnfache Volum hergestellt werden kann. Die Ludwig'sche Lösung enthält im Liter eine 15 gr. Kaliumhydrat oder 10 gr. Natriumhydrat entsprechende Menge Sulfhydrat. Diese Lösung dient zum Zurücktitriren des Silbers. Da sie sich in Berührung mit Luft zersetzt, ihr Titre daher leicht zurückgeht, so bewahrt man sie in ganz vollen, mit Kautschukpfropfen gut verschlossenen Fläschchen auf; die unverdünnte Lösung in Fläschchen zu 100 cbcm., die verdünnte in solchen zu 200 cbcm. oder grösseren. Es ist nicht vortheilhaft, den Rest einer angebrochenen Flasche nach Tagen noch zu benützen.

4. Bleipapier. Weisses Filtrirpapier wird mit einer Bleiacetatlösung getränkt, an der Luft getrocknet und in Streifen geschnitten unter Verschluss aufbewahrt.

Das Verfahren wird in folgender Weise ausgeführt:

Man misst zunächst in einem Maass-Cylinder von wenigstens 300 cbcm. Fassungsraum 150 cbcm. Harn ab.

Enthält der Harn ein Uratsediment, so ist dieses vorher zur Lösung zu bringen, entweder durch schwaches Erwärmen der ganzen zur Verfügung stehenden Harnmenge, oder durch Zusatz von etwas Natronlauge. Ist im letzteren Falle ein Phosphatsediment entstanden, so säuert man den Harn, nachdem sich die Harnsäure gelöst hat, wieder mit Salzsäure schwach an.

Eiweisshaltigen Harn hat man vom Eiweiss zu befreien. Man säuert eine grössere Menge Harn passend an, kocht auf, stellt nach dem Erkalten das ursprüngliche Gewicht oder Volumen durch Zusatz von Wasser wieder her, filtrirt und misst vom Filtrate 150 cbcm. ab.

Man lässt sodann aus einer Burette genau 18 cbcm. der Zehntel-Normal-Silberlösung in ein kleines Becherglas fliessen,

setzt 30 cbcm. eines 20procentigen Ammoniaks, oder die entsprechende Menge eines verdünnteren, und 15 cbcm. Magnesiamischung zu und mischt durch Umrühren. Obwohl man auch mit weniger, unter Umständen sogar mit der halben Menge Ammoniak auskäme, so ist dennoch die Menge auf 30 cbcm. festgesetzt worden, um auf jeden Fall sicher zu sein, dass sich alle in Ammoniak löslichen Silberverbindungen auch wirklich in Lösung befinden.

Enthält die Magnesiamischung zu wenig Salmiak, so entsteht dabei ein flockiger Niederschlag von Magnesiumhydrat, durch den man sich nicht weiter beirren lässt.

Die Silberlösung wird hierauf ohne Verlust zu dem Harne in den Cylinder gegossen, das Becherglas mehrere Male mit Wasser nachgespült und das gesammte Volum auf 300 cbcm. gebracht. Man schüttelt um und filtrirt durch ein grosses Faltenfilter bei bedeckt gehaltenem Trichter in einen Kolben.

Im Filtrate hat man nun das noch in Lösung befindliche Silber durch die Sulfhydratlösung zu titriren und den Titre der Schwefelalkalilösung auf die Silberlösung festzustellen. Es ist also so lange von der Sulfhydratlösung hinzuzufügen, bis sich die ersten Spuren des Ueberschusses nachweisen lassen.

Mit dem Tüpfelverfahren, das ich zuerst versuchte, kommt man dabei nicht zu Stande, namentlich deshalb nicht, weil sich der Schwefelsilberniederschlag in der Kälte schlecht absetzt. Dagegen habe ich mit Vortheil eine Methode benützt, welche mir von Herrn Professor Huppert vorgeschlagen wurde. Das überschüssige Schwefelalkali muss sich nämlich mit dem Ammoniak zu Schwefelammonium umsetzen, und dieses lässt sich im Dampfe der siedenden Flüssigkeit nachweisen.

Bei der Titrirung des Silber-Restes im Harnfiltrate wurde daher in folgender Weise vorgegangen:

In ein Kölbchen von 100—150 cbcm. Fassungsraum wurden mit der Pipette 50 cbcm. des Harnfiltrats abgemessen, Schwefelalkalilösung aus einer Burette zufliessen gelassen, das Kölbchen mit einem Kork verschlossen, in dessen Bohrung

ein kurzes, ungefähr 5 mm. weites Glasrohr eingesetzt war, und die Flüssigkeit zum gelinden Sieden erhitzt, wobei das Kölbchen schräg gelagert wurde. Einen Ueberschuss an Sulfhydrat erkennt man an der Bräunung des befeuchteten, in den Dampfstrom gehaltenen Bleipapiers; ist nur wenig Sulfhydrat überschüssig, so wird die Bräunung nur allmälig sichtbar.

Die Bräunung des Bleipapiers ist auch bei künstlicher Beleuchtung gut zu erkennen, so dass sich die Bestimmung auch abends anstandslos ausführen lässt. Man nimmt die Bräunung am besten wahr, wenn man den Streifen auf ein Blatt weisses Papier legt.

Kocht man das Harnfiltrat einige Zeit für sich, so fällt ein schwarzer Silberniederschlag aus[1]); daraus folgt, dass sich beim längeren Kochen während des Titrirens ein Theil des Silberrestes der Bestimmung entzieht, und dass nur diejenige Titrirung richtig ist, bei welcher die zum Ausfällen des Silbers erforderliche Menge des Sulfhydrats sogleich, bei einmaligem Zusatz, wenigstens bis auf ein paar Zehntel-Cubikcentimeter getroffen ist.

Die erste Titrirung kann also nur eine approximative sein.

Es hat sich als praktisch ergeben, dass man zuerst 5 cbcm. der Sulfhydratlösung zusetzt und dann immer 0,5 cbcm. auf einmal, bis die Endreaction deutlich eintritt. Dann wiederholt man den Versuch, indem man sogleich diejenige maximale Menge des Reagens zusetzt, bei der die Reaction noch nicht erfolgte, und dann mit Zehntel-Cubikcentimetern austitrirt. Endlich verwendet man bei einem dritten Versuche gerade soviel der Lösung, bei welcher zuletzt die Endreaction eintrat. Es stimmen dann die beiden letzten Titrirungen entweder genau überein, oder es fehlen bei der letzten noch 0,1, höchstens 0,2 cbcm. Selbstverständlich kann man die Be-

---

1) Der Niederschlag besteht, nach seinem Verhalten gegen Cyankalium, aus metallischem Silber, dem etwas Schwefelsilber beigegeben ist. — Selbst bei mehrstündigem Stehen des Filtrats bei Zimmertemperatur bleibt alles Silber in Lösung und man findet beim Titriren nach mehreren Stunden dieselbe Menge Harnsäure, wie sofort nach dem Filtriren.

stimmung durch nochmalige Wiederholung controliren; das Filtrat reicht für fünf Titrirungen aus.

Die Endreaction soll selbstverständlich nur schwach, jedoch immerhin deutlich erkennbar sein. Man hat vor Allem darauf zu achten, dass die Wand des Kölbchens nicht im Geringsten mit der Sulfhydratlösung benetzt sei. Schon wenn von einem direct in die Flüssigkeit fallenden Tropfen des Reagens ein Theil durch Zurückschleudern an die Wand des Gefässes gespritzt ist, tritt sofort eine starke Endreaction ein. Glaubt man die Endraaction erreicht zu haben, so spült man die Wand des Kölbchens, die Innenseite des Stöpsels und das Glasrohr noch einmal mit Wasser ab und kocht nochmals auf. Häufig bräunt sich dann, wenn wirklich zu Ende titrirt war, das Bleipapier nochmals, sicher aber, wenn man noch einen Tropfen Reagens zusetzt.

Ebenso verfährt man bei der Titerstellung. Man misst genau 10 cbcm. der Zehntel-Normal-Silberlösung in das Kölbchen, übersättigt stark mit Ammoniak und titrirt mit der Sulfhydratlösung bis zur Endreaction. Nur der Unterschied findet statt, dass die Silberlösung auch bei längerem Kochen von selbst kein Silber abscheidet, wie dies beim Harnfiltrate der Fall ist. Von einer nach der oben gegebenen Vorschrift bereiteten Schwefelkaliumlösung, welche sich durch Zutritt von Luft noch nicht zersetzt hat, braucht man ungefähr 30 cbcm., etwas mehr oder weniger, bis zur Endreaction. Man kann also mit 29,0 oder 29,5 cbcm. beginnen. Selbstverständlich controlirt man die erste Bestimmung. Die Anzahl der verbrauchten cbcm. der Sulfhydratlösung ist der Titre derselben.

Hat man den Titre einmal festgestellt, so lässt sich mit derselben Sulfhydratlösung eine ganze Reihe Harnsäure-Bestimmungen hinter einander in kurzer Zeit ausführen.

Die Berechnung der Analyse gestaltet sich einfach. Wenn man den Harnsäuregehalt für 100 cbcm. Harn erfahren will, so berechnet man sich mit dem ermittelten Titre der Sulfhydratlösung — er sei hier 35,0 cbcm. —, wie viel cbcm.

Sulfhydrat zur Fällung von 12 cbcm. der Zehntel-Normal-Silberlösung erforderlich wären; denn auf 150 cbcm. Harn sind 18, auf 100 cbcm. Harn demnach 12 cbcm. Silberlösung zugesetzt worden. Im vorliegenden Fall würden auf 12 cbcm. Silberlösung also 42 cbcm. Sulfhydratlösung kommen.

Man hat ferner eine bestimmte Anzahl cbcm. der Sulfhydratlösung verbraucht zum Ausfällen des in 50 cbcm. Harnfiltrats noch enthaltenen Silberrestes — es seien dies hier 8,9 cbcm. gewesen. In 50 cbcm. Harnfiltrat sind aber 25 cbcm. Harn enthalten. Man erfährt also die Sulfhydratmenge, welche zum Fällen des Silbers in 100 cbcm. Harn erforderlich ist, durch Multipliciren der für 50 cbcm. Filtrat verbrauchten Menge mit 4. Zieht man dies Product — hier $4 \times 8{,}9 = 35{,}6$ — von der für 12 cbcm. Silberlösung erforderliche Sulfhydratmenge — 42,0 — ab, so bekommt man die Anzahl cbcm. Sulfhydratlösung, welche die im Niederschlage enthaltene Silbermenge binden würde: $42{,}0 - 35{,}6 = 6{,}4$ cbcm.

Der Titre der Sulfhydratlösung ist auf 10 cbcm. Zehntel-Normal-Silberlösung gestellt worden. Es sind aber 10 cbcm. Zehntel-Normallösung so viel wie 1 cbcm. Normallösung. Da nun das ausfallende Urat nur Ein Atom Silber enthält und das Molekulargewicht der Harnsäure 168 ist, so entsprechen die 10 cbcm. der Zehntel-Normallösung, oder was dasselbe ist, der Titre der Sulfhydratlösung entspricht 168 mgr. Harnsäure. In unserem Falle würde ein Verbrauch von 35 cbcm. der Sulfhydratlösung 168 mgr. Harnsäure anzeigen. Man hat nun noch zu berechnen, wie viel 1 cbcm. der Sulfhydratlösung mgr. Harnsäure entspricht, indem man mit dem Titre der Lösung in 168 dividirt und mit diesem Quotienten die Anzahl cbcm. der Sulfhydratlösung multiplicirt, die für das Rücktitriren des in 100 cbcm. Harnfiltrat enthaltenen Silberrestes erforderlich waren. Für das gewählte Beispiel also: $6{,}4 \times \frac{168}{35} = 30{,}72$. Es sind somit in 100 cbcm. 30,7 mgr. Harnsäure gefunden worden.

Bezeichnet man mit N den Titre der Sulfhydratlösung (für 10 cbcm. Zehntel-Normal-Silberlösung) und mit n die Zahl der cbcm. Sulfhydrat-

lösung, welche für 50 cbcm. Harnfiltrat weniger verbraucht wurden, als die darin enthaltenen 3 cbcm. Silberlösung für sich verbraucht hätten, so gelangt man mittelst der Formel

$$\frac{4 \times 0{,}168 \,.\, n}{N} = \frac{0{,}672 \,.\, n}{N}$$

zum gleichen Resultate.

Die Methode wurde zunächst mit Harnsäure-Lösungen geprüft.

1. Es wurde käufliche, durch Lösen in Schwefelsäure und Fällen durch Wasser einigermassen gereinigte Harnsäure in Natronlauge gelöst, die Lösung mit Natriumphosphat versetzt und in abgemessenen Mengen die Harnsäure einerseits nach Ludwig bestimmt, andererseits titrirt.

Zwei Bestimmungen nach Ludwig ergaben im Mittel für 100 cbcm. 121,45 mgr., durch Titriren wurde 120,45 mgr. gefunden. Ferner ergab in einer anderen Lösung die gewichtsanalytische Bestimmung im Mittel 36,2 mgr. für 100 cbcm., die Titrirung 36,14 mgr. Bei der Titrirung wurde ein Tropfen (0,05 cbcm.) Sulfhydratlösung, als für die Endreaction verbraucht, in Abzug gebracht.

2. Ein anderer Versuch wurde mit Harnsäure vorgenommen, die durch Umkrystalliren als Sulfat rein erhalten worden war. Die Harnsäure wurde durch Wasser abgeschieden und säurefrei gewaschen.

Von dem bei 100° getrockneten Präparate wurde eine Lösung von bekanntem Gehalt mittelst Natronlauge unter Zusatz von Natriumphosphat hergestellt. Von 100 mgr. in Lösung befindlicher Harnsäure wurden wieder gefunden nach Ludwig 99,0, durch Titriren 98,9; ferner statt 30 mgr. nach Ludwig 29,95, durch Titriren 30,15 mgr.

Diese Versuche beweisen, dass die Methode auf Harnsäure allein angewandt, so gute Resultate liefert, als die directe Bestimmung nach Ludwig.

Anders sind die vergleichenden Bestimmungen beim Harne ausgefallen, wie die nachfolgende Tabelle zeigt:

| No. | In 100 cbcm. Harn mgr. Harnsäure | | Differenz | |
|---|---|---|---|---|
| | gewogen. | titrirt. | mgr. | Procente. |
| a 1 | 7,1 | 9,2 | + 2,1 | 29,6 |
| a 2 | 15,2 | 18,8 | + 3,6 | 23,6 |
| b 3 | 16,2 | 18,5 | + 2,3 | 14,2 |
| c 4 | 18,8 | 15,5 | — 3,3 | — |
| d 5 | 22,2 | 21,7 | — 0,5 | — |
| e 6 | 31,4 | 35,2 | + 3,8 | 12,1 |
| b 7 | 33,2 | 37,9 | + 4,7 | 14,2 |
| c 8 | 36,9 | 38,5 | + 1,6 | 4,3 |
| 9 | 37,8 | 42,1 | + 4,3 | 11,4 |
| 10 | 40,8 | 40,2 | — 0,6 | — |
| 11 | 41,0 | 45,2 | + 4,2 | 10,2 |
| 12 | 44,2 | 48,3 | + 4,1 | 9,3 |
| 13 | 45,4 | 51,8 | + 6,4 | 14,1 |
| 14 | 92,0 | 109,8 | + 17,8 | 19,3 |
| d 15 | 103,3 | 126,4 | + 23,1 | 22,4 |
| 16 | 109,3 | 122,2 | + 12,9 | 11,8 |
| e 17 | 112,4 | 116,2 | + 3,8 | 3,4 |

Mit Ausnahme von No. 15 und 16 waren alle Harne normale Harne; diese zwei jedoch Fieberharne mit einer Spur von Eiweiss. Von den mit gleichen Buchstaben bezeichneten Harnen ist der verdünntere aus dem concentrirteren durch Zusatz von Wasser hergestellt worden. Die Bestimmungen nach Ludwig sind paarweise ausgeführt worden; die Tabelle giebt das Mittel beider.

In den meisten Fällen, in 14 von 17, wurde durch die Titrirung mehr Harnsäure gefunden, als durch die Wägung. Letztere ergab im Mittel aller Bestimmungen 47,5 mgr., die Titrirung 52,8 mgr.; also 5,3 mgr. oder 10 % der gewogenen Harnsäure mehr. Bei den ersten 13 dünneren Harnen betragen die Mittel 30,0 und 32,5 mgr., der Ueberschuss beläuft sich hier nur auf 2,5 mgr. oder 8,3 %; bei den letzten 4 concentrirten Harnen machen die Mittel 104,2 und 118,6 mgr. aus; die Differenz 14,4 mgr. oder 14,2 %.

Lässt man bei den dünneren Harnen die drei Fälle weg, bei welchen durch Titrirung weniger Harnsäure gefunden wurde, als durch Wägung, so ist der Ueberschuss in Procenten ebenso gross wie bei den concentrirten Harnen.

Die Differenzen zwischen Titrirung und Wägung lassen sich auf mehrere Ursachen zurückführen.

Nach Ludwig's eigener Angabe entgehen von abgewogenen Mengen Harnsäure ungefähr 2% der Bestimmung nach seiner Methode. Dieser Verlust findet nur zum Theil bei der Verarbeitung des Harnsäure-Niederschlages statt und würde bei der Titrirung als Ueberschuss erscheinen.

Ein anderer Fehler liegt darin, dass der Urat- und Phosphat-Niederschlag beim Messen der Flüssigkeiten unberücksichtigt geblieben ist, während doch das Volum der Gesammtflüssigkeit um das Volumen des Niederschlages kleiner war. Der Fehler ist aber gleichfalls nur geringfügig. Die titrirten 32,5 mgr. Harnsäure hätten in 92,3 cbcm., statt, wie gerechnet wurde, in 100 cbcm. enthalten sein müssen, wenn der Wägung entsprechend nur 30,0 mgr. hätten gefunden werden sollen. Der gesammte Niederschlag hätte also ein Volum von 7,7 cbcm. ausmachen müssen. Setzt man die Dichte des Niederschlags bloss = 1, was entschieden zu niedrig ist, so hätte der Niederschlag aus 100 cbcm. Harn 7,7 gr. gewogen. Aber erst die Tagesmenge des Harns liefert bei 2 gr. $P_2O_5$ 7 gr. an Tripelphosphat.

Weit bedeutender sind die in der Ausführung der Methode selber gelegenen Fehler; sie sind dreierlei Art: solche, welche begangen wurden beim Abmessen der Flüssigkeiten im Cylinder und beim Abmessen der Silberlösung, ferner bei der Bestimmung der Harnsäure nach Ludwig und der maassanalytischen Bestimmung. Welche Höhe sie in Summa erreichten, ergiebt sich aus der Vergleichung der Befunde bei je zwei gleichartigen Harnen, von denen der eine aus dem andern durch Verdünnen hergestellt wird. Nur einmal (bei Fall b) war der Unterschied zwischen Wägung und Titrirung gleich (14,2%), einmal (Fall a) lagen die Differenzen noch nahe bei einander (29,6 und 23,6%), in den anderen Fällen waren sie jedoch bedeutend.

Wie viel von dem Gesammtfehler auf jede einzelne Operation entfällt, lässt sich nicht sicher nachweisen. Die Wägungs-Paare differirten in der Regel zwischen 0,1 und 0,5 mgr.; es traten aber auch ausnahmsweise Abweichungen bis zu 2,6 mgr. auf. Noch weit mehr kann bei der Titrirung gefehlt werden. Beträgt der Titre der Silberlösung 30, so zeigt 0,1 cbcm. 0,56 mgr. Harnsäure an. Der Fehler, den man bei der Titrirung des Filtrats macht, wird mit 4 multiplicirt in Rechnung gebracht. Irrt man sich um 0,1 cbcm. der Sulfhydratlösung, so begeht man in der Harnsäure-Bestimmung einen Fehler von $4 \times 0,56 = 2,24$ mgr. Harnsäure.

Bei der Titrirung wird man nun allerdings viel eher zu viel von der Sulfhydratlösung verbrauchen, als zu wenig; der Silberrest wird grösser und die Mengen der gefällten Harnsäure kleiner erscheinen, als

sie sind. Nun liegen aber die Differenzen zumeist auf der positiven Seite und daraus ist ersichtlich, dass alle die aufgezählten Fehler nicht ausreichen, um das Plus der Titrirung zu erklären. Ja, da sich auch bei der Haycraft'schen Methode der Niederschlag silberreicher erweist, als der gefällten Harnsäure entspricht, so ist die Abweichung noch in anderen unbekannten Umständen begründet, die sich hier sowohl als bei der Haycraft'schen Methode in gleicher Weise geltend machen.

Am nächsten liegt es, daran zu denken, dass durch die ammoniakalische Silberlösung ausser der Harnsäure noch andere Substanzen gefällt werden, deren Silberverbindungen, so wie die der Xanthinkörper, in Ammoniak unlöslich sind. Welche das sind, lässt sich nicht sofort erkennen. Die Xanthinkörper sind sicher dabei betheiligt; sie treten aber im Harne in so geringen Mengen auf, dass sich aus ihrer Gegenwart allein eine mittlere Differenz von 10 % nicht wohl erklären lässt. Es scheinen noch andere, unbekannte Verbindungen hiebei mitbetheiligt zu sein.

Ausser dieser Möglichkeit läge aber noch eine andere vor, den stärkeren Silbergehalt des Niederschlages zu erklären. Es könnte ja sein, dass die Harnsäure mehr als 1 Atom Silber bände. Wenn sich diese Vermuthung auch chemischer Seits rechtfertigen liesse, so ist sie doch darum zurückzuweisen, weil die Titrirung der reinen Harnsäure zu richtigen Werthen geführt hat. Die Ursache der Differenz ist also nicht in der Harnsäure, sondern im Harne zu suchen.

Wenn es auch nicht gelungen ist, die Ursache der Differenz aufzuklären, so bleibt dennoch die beschriebene Methode eine für klinische Zwecke ganz brauchbare und verdient wegen der Einfachheit ihrer Handhabung und der geringen Ansprüche, die sie an den technischen Apparat stellt, den Vorzug vor der Methode von Haycraft, der sie an Genauigkeit gleichkommt.

Herrn Professor Huppert spreche ich für seine überaus gütige Beihilfe bei der Feststellung der Methode meinen innigsten Dank aus.

---

# Ueber die Säuren der Schweinegalle.

Von

**Prof. Dr. Severin Jolin.**

(Der Redaction zugegangen am 24. April 1888.)

Während die physiologisch-chemische Litteratur der letzten Jahre an Arbeiten sowohl über die Säuren in der Galle des Menschen, welche von Hammarsten, Bayer, Schotten u. a. untersucht worden sind, sowie auch, und dies in einem noch höhern Grade, über die in der Ochsengalle auftretende Cholalsäure und deren Oxydationsproducte, wovon unsere Kenntniss durch Tappeiner, Cleve, Hammarsten, Latschinow, vor Allen aber durch Mylius in wesentlichem Grade erweitert worden ist, einen grossen Reichthum zeigt, findet man die Schweinegalle mit ihren Säuren nur wenig beachtet, was um so mehr Wunder nehmen muss, wenn man einerseits das eigenthümliche und interessante Verhältniss in Betracht zieht, dass diese Galle, wie man längst weiss, in ihren Eigenschaften sich deutlich von allen andern der bisher studirten Gallen unterscheidet, sowie andererseits, dass das Material sich ohne besondere Schwierigkeit in beliebiger Menge beschaffen lässt. Ohne Zweifel ist die Ursache zu dieser Nichtbeachtung der Schweinegalle theils darin zu sehen, dass man auf Grund der grossen Auctorität Strecker's geglaubt hat, der von ihm (und Gundelach) publicirten Untersuchung der Schweinegalle und deren Bestandtheile nichts mehr hinzufügen zu können, theils auch, und vielleicht vorzugsweise, darin, dass man sich durch die von den genannten beiden Verfassern hervorgehobene Schwierigkeit, die Schweine-

gallensäure und deren Derivat in krystallisirtem Zustand zu erhalten, von einer Untersuchung dieser Säure hat abschrecken lassen. Da dahingegen die gewöhnliche Cholalsäure aus der Ochsengalle, wie bekannt, leicht und gut krystallisirt, so ist es nicht zu verwundern, wenn man für die Versuche zur Erforschung der Constitution der Gallensäuren lieber diese als die schwer oder gar nicht krystallisirende Hyocholalsäure zum Ausgangspunkt erwählt hat. Aber auf der andern Seite fordern gerade die in den letzten Jahren hinsichtlich der Säuren der Ochsengalle gemachten wichtigen Entdeckungen, dass auch die Untersuchungen der von diesen Säuren abweichenden Gallensäuren einer Revision unterzogen werden, und die neuesten Verfasser (Schotten, Mylius) heben auch das Gewicht eines erneuten Studiums besonders der Schweine- und der Gänsegalle hervor.

Schon Thénard[1]) hatte die Schweinegalle untersucht und gefunden, dass sie von Essigsäure gefällt wird. Von den beiden Stoffen «Gallenharz» und «Pikromel», welche Thénard als die charakteristischen und hauptsächlichen Bestandtheile der Galle betrachtete, fand er in der Schweinegalle nur den erstgenannten. Gorup-Besanez[2]) beschäftigte sich ebenfalls etwas mit der Schweinegalle und war der Ansicht, dass dieselbe eine Säure enthalte, welche, wie er glaubte, dieselbe Zusammensetzung wie Demarçay's Choloidinsäure habe, also stickstoff- und schwefelfrei sei. Dieses unerwartete Ergebniss veranlasste Liebig, Gundelach und Strecker aufzufordern, eine neue und gründlichere Untersuchung der Schweinegalle vorzunehmen. Es ist von der in diesem Jahre, 1847, veröffentlichten Arbeit[3]) nebst ein paar andern, von Strecker später publicirten Untersuchungen[4]), wo unsere Kenntniss von den Bestandtheilen der Schweinegalle sich beinahe ausschliesslich herleitet. Nach Strecker besteht die

---

[1]) Mém. d. Phys. et de Chim. de la soc. d'Arcueil, Bd. I, S. 23 (1806).
[2]) Ann. d. Chem., Bd. 59, S. 156.
[3]) Ann. d. Chem., Bd. 62, S. 205.
[4]) Ann. d. Chem., Bd. 70, S. 179 und Bd. 123, S. 353. Vergl. auch Bd. 65, S. 37.

Schweinegalle hauptsächlich aus einer Lösung von Natrium- (in sehr geringer Menge auch Kalium- und Ammonium-) Salz von einer eigenthümlichen Säure, der er den Namen Hyocholinsäure gegeben hat, welcher Name aber später, in Uebereinstimmung mit dem der entsprechenden Säure in der Ochsengalle, in Hyoglykocholsäure umgeändert worden ist. Die Formel dieser Säure ist (mit neueren Atomgewichten) $C_{27}H_{43}NO_5$, und dieselbe würde also möglicherweise mit der von Mulder[1]) und Strecker dargestellten (Glyko)cholonsäure, welche ein Zersetzungsproduct der Glykocholsäure ist und nach Strecker die Formel $C_{26}H_{41}NO_5$ haben muss, homolog sein. Die Hyoglykocholsäure bildet eine in Wasser beinahe unlösliche, amorphe, harzartige weisse Masse, welche in feuchtem Zustande in heissem Wasser schmilzt und dabei in seideglänzende Fäden ausgezogen werden kann, in trockenem Zustande hinwiederum leicht pulverisirbar ist und nicht einmal bei $+ 120^0$ schmilzt. Die Säure ist einbasisch; die Salze derselben mit Natron, Kali, Ammoniak, Baryt, Kalk, Blei- und Silberoxyd wurden von Gundelach und Strecker dargestellt und analysirt. Charakteristisch für die Hyoglykocholsäure ist theils, dass die Alkalisalze derselben, welche sich mit Leichtigkeit in reinem Wasser lösen, bei Zusatz von concentrirten Lösungen von kaustischen Alkalien und neutralen Alkalisalzen (Carbonaten, Sulfaten etc.) wieder ausgefällt, d. h. gleichwie Seife ausgesalzen werden können, theils dass die Säure mit Kalk, Baryt und Magnesia in kaltem Wasser beinahe unlösliche Vereinigungen giebt. Hierdurch sowie auch durch ihre Zusammensetzung unterscheidet sie sich bestimmt von den Säuren der Ochsengalle.

Bei langwierigem (24stündigem) Kochen mit Kalilauge geht die Hyoglykocholsäure in Hyocholalsäure über, welche sich von der gewöhnlichen Cholalsäure dadurch unterscheidet, dass sie nur mit grosser Schwierigkeit zum Krystallisiren gebracht werden kann. Durch die Analyse der Säure selbst sowie deren Bariumsalz erhielt Strecker für dieselbe die

---

1) Scheik. Onderz., Bd. V, S. 1.

Formel $C_{25}H_{40}O_4$, und er nahm deshalb an, dass sie, in Analogie mit dem, was er bei der Ueberführung der Glykocholsäure in Cholalsäure gefunden, nach der Formel $C_{27}H_{43}NO_5 + H_2O = C_{25}H_{40}O_4 + C_2H_5NO_2$ gebildet worden ist.

Da die Hyoglykocholsäure schwefelfrei befunden worden ist, so entstand, nachdem Strecker das Vorhandensein einer schwefelfreien und einer schwefelhaltigen Säure in der Ochsengalle nachgewiesen, ganz natürlich die Frage: findet sich eine schwefelhaltige Säure auch in der Schweinegalle? Strecker und Gundelach fanden in der mit Aether aus alkoholischer Lösung gefällten Schweinegalle nur 0,47 % Schwefel und glaubten, dass dieser Schwefel ausschliesslich von Sulfaten herrühre, konnten aber für die Richtigkeit dieser Annahme keine bindenden Beweise anführen. Nach der Entdeckung der Taurocholsäure kam Strecker[1]) aber zu einer anderen Ansicht, und er suchte dann glaublich zu machen, dass sich in der Schweinegalle in sehr geringer Menge eine dieser Säure entsprechende, schwefelhaltige Säure finde. Seine Versuche[2]), aus dieser Galle Taurin darzustellen, glückten aber nicht; er erhielt zwar aus der Mutterlauge von auskrystallisirtem Glykokoll Krystalle, welche, obschon fortfahrend von salzsaurem Glykokoll verunreinigt, dem Taurin ähnelten und nach Verbrennung von Salpeter bei Zusatz von Chlorbarium Fällung von Bariumsulfat gaben, einen bestimmten Beweis aber für die Möglichkeit, aus der Schweinegalle Taurin darzustellen, konnte er nicht geben. Natürlicherweise konnte die Menge der schwefelhaltigen Säure in der Schweinegalle, da der Schwefelgehalt der Galle ein so unbedeutender war, auf alle Fälle nur eine äusserst geringe sein. Bensch[3]) fand bei seinen Versuchen in der Schweinegalle nur 0,3 % Schwefel, van Heijningen und Scharlée[4]) aber in der rohen

---

[1]) Ann. d. Chem., Bd. 65, S. 36.

[2]) Vergl. Handwörterbuch der Chemie, Bd. III, S. 250, und Ann. d. Chem., Bd. 70, S. 183.

[3]) Ann. d. Chem., Bd. 65, S. 194.

[4]) Scheik. Onderz., Bd. V, S. 105.

Schweinegalle einen Schwefelgehalt, welcher zwischen 0,81 und 1,93 % wechselte. Strecker glaubte die Ursache hierzu darin sehen zu müssen, dass bei der Behandlung der Schweinegalle mit Alkohol und Aether aus derselben ein schwefelreicher Stoff entfernt werde, denn dass das Verhältniss zwischen der schwefelfreien und der schwefelhaltigen Säure in nennenswerthem Grade variire, wäre nach ihm nicht wahrscheinlich. van Heijningen und Scharlée stellten aus der Schweinegalle auch ein Bleisalz dar, aus dessen Analyse sie schlossen, dass die von Gundelach und Strecker aufgestellte Formel unrichtig und der Fellonsäure, wie sie die Säure der Schweinegalle benannten, die Formel $C_{54}H_{42}NO_{11}$ (Aequivalent-Formel) zu geben sei. Hierbei aber berücksichtigten sie nicht, dass dieses Bleisalz nach ihrer Analyse 0,31 % Schwefel enthielt und daher nicht ganz rein sein konnte. Als die aus dem Bleisalz dargestellte Säure in Alkohol gelöst und die Lösung sodann über Wasserbad abgedünstet wurde, so sonderten sich ausser einem Harz (= Gallensäure) auch weisse Nadeln ab, welche Taurin ähnelten und bei der Analyse einen Schwefelgehalt von 24 % zeigten. Zu bemerken ist jedoch, dass die zur Analyse angewandte Substanz nur 8 Milligramm (!) gewogen hat, woraus natürlicherweise folgt, dass die Bestimmung nicht hat besonders genau sein können. Strecker ist jedoch der Ansicht, dass es van Heijningen und Scharlée wirklich gelungen ist, aus der Schweinegalle Taurin darzustellen, und er schliesst daraus, dass sich in der Schweinegalle auch eine schwefelhaltige Säure findet, deren Formel er ex analogia zu $C_{27}H_{45}NSO_6$ annimmt und welche er Hyocholeinsäure benennt. Der Schwefelgehalt des letztgenannten Bleisalzes rührte nach Strecker davon her, dass die beiden holländischen Chemiker mit einer Mischung von circa 19 Aequiv. hyoglykocholsaurem und 1 Aequiv. hyocholeinsaurem Bleioxyd gearbeitet haben.

Die Hyocholeinsäure, deren Name später, in Analogie mit demjenigen der Hyoglykocholsäure, in Hyotaurocholsäure umgeändert worden ist, hat also, Dank sei Strecker's Auctorität, die Anerkennung der Wissenschaft und einen Platz

in den Lehrbüchern der physiologischen Chemie auf ziemlich schwache Gründe hin erhalten. Denn weder die Säure selbst, noch eine ihrer Verbindungen ist jemals nicht einmal in unreinem Zustande dargestellt und analysirt worden, und die Entstehung von Taurin als eines ihrer Zersetzungsproducte kann wohl kaum als hinreichend bewiesen gelten. Das Einzige, was in dieser Hinsicht die ausgeführten Untersuchungen mit einiger Sicherheit ergeben haben, ist der Gehalt der Schweinegalle an Schwefel auch in anderer Form als wie Sulfat.

Ausser gallensauren Salzen, welche ungefähr $^3/_4$ des Gewichtes der eingetrockneten Galle ausmachten, fanden Strecker und Gundelach in der Schweinegalle Farbstoffe, Fett, Cholesterin und Chlornatrium, sowie eine geringe Menge von Sulfaten und Phosphaten von Calcium, Magnesium, Mangan und Kalium; ebenso fand Strecker bei einer spätern, allein ausgeführten Untersuchung[1]) der Schweinegalle auch Cholin, Fleischmilchsäure und Lecithin. Popp[2]) wies nach, dass der Harnstoff einen constanten Bestandtheil sowohl der Ochsen- als auch der Schweinegalle bildet, in welcher letztern er in einer relativ grössern Menge vorzukommen scheint als in der erstern.

---

Die Untersuchung der Säuren der Schweinegalle, über welche ich in dem Folgenden berichten werde, ist zunächst durch eine Beobachtung veranlasst, die ich vor ein paar Jahren machte, als ich reines Natriumhyoglykocholat aus der von Schleim befreiten Schweinegalle durch Ausfällung mittelst einer gesättigten Lösung von Natriumsulfat zu erhalten suchte. Ich fand damals, dass die Fällung, welche entstand, wenn die Galle in gesättigte Natriumsulfatlösung gebracht wurde, unter verschiedenen Umständen ein ziemlich verschiedenes Aussehen zeigen konnte. Während der zuerst entstehende Niederschlag in der Regel sehr voluminös und von

---

1) Ann d. Chem., Bd. 123, S. 353.
2) Ann. d. Chem., Bd. 156, S. 88.

einer weissen, mehr oder weniger in gelbgrün ziehenden Farbe war, zeigte sich derselbe nach ein paar Stunden bedeutend zusammengesunken und oft mit grösseren und kleineren Tropfen einer braungelben bis schwarzbraunen, ölähnlichen Masse untermischt, die sich aber leicht in reinem Wasser löste. Und in einem noch höhern Grade war dieses mit den später ausgefällten Fractionen der Fall. Unter dem Mikroskop zeigte sich besonders ein sehr deutlicher Unterschied zwischen den grossen, aber äusserst dünnen, eigenthümlich gefalteten Häuten oder Lamellen, in welcher Form die erstgenannte Fällung auftrat, und den vollständig runden, klaren, an Fettkügelchen erinnernden, obschon farbigen Tropfen, aus denen die letztere Fällung bestand. Von Einfluss auf die Beschaffenheit des Niederschlags schien die Temperatur zu sein, insbesondere aber das Verhältniss zwischen den angewandten Mengen Gallenlösung und Natriumsulfatlösung, ebenso die Concentration der erstern. Wenn z. B. einer concentrirten Lösung von Galle das doppelte und dreifache Volumen gesättigter Glaubersalzlösung zugesetzt wurde, so entstand ein dunkelfarbiger, kleberiger, von dem braunen «Oel» durchsetzter Niederschlag, wohingegen, wenn eine mehr verdünnte Galle in eine grosse Menge (ungefähr 20 Volumen) gesättigter Natriumsulfatlösung gegossen wurde, die Fällung flockig und nur ganz unbedeutend gefärbt erschien, so dass sie sich von der dunkel gefärbten Flüssigkeit stark unterschied. Als diese Flüssigkeit sodann eingekocht wurde, schied das in ihr aufgelöste gallensaure Salz in der Form eines schwarzgrünen oder schwarzbraunen Oeles aus, das bei Abkühlung zu zähen Massen erstarrte. Dieses Verhältniss hatten schon Gundelach und Strecker beobachtet, denn dieselben äussern unter Anderem: «Dampft man eine bei gewöhnlicher Temperatur mit Glaubersalz gesättigte Galle ab, nachdem man durch Filtration das ausgeschiedene hyocholinsaure Natron getrennt, so bildet sich, wenn die Lösung auf weniger als die Hälfte reducirt ist, eine stark braun gefärbte Haut, und bei fortgesetztem Abdampfen scheidet sich beinahe sämmtliches hyocholinsaures Natron, vermengt mit dem Farbstoff und Fetten, aus, so dass die

kochend concentrirte Glaubersalzlösung nur schwach gefärbt und beinahe frei von organischen Substanzen ist»[1]). Dieses ist wohl insofern vollständig richtig, als die Glaubersalzlösung bei einer derartigen Verfahrungsweise sofort so gut wie frei von gallensauren Salzen und nur durch einen rothbraunen Farbstoff verunreinigt erhalten wird, der sich durch eine oder zwei Umkrystallisirungen entfernen lässt, so dass dann das Natriumsulfat wieder ganz weiss und rein ist. Dahingegen kann «die stark braun gefärbte Haut» aber keine gallensauren Salze von der Beschaffenheit der zuerst ausgefällten flockigen Fällung enthalten, denn wenn diese «braune Haut», welche in Allem der oben erwähnten ölartigen Fällung gleicht, in Wasser aufgelöst und die Lösung sodann mit einer gesättigten Glaubersalzlösung vermischt wird, so erhält man von dem flockigen Niederschlage nichts (oder nur sehr wenig), die Mischung aber erscheint emulsionsartig getrübt und setzt ein schweres dunkelbraunes «Oel» von dem oben beschriebenen Aussehen ab, oder auch bleibt sie ganz klar, was ganz von der Concentration und Temperatur der angewandten Lösung abhängt.

Hier schienen also zwei verschiedene gallensaure Salze vorzuliegen. In dieser Vermuthung wurde ich um so mehr bestärkt, als ich bald noch eine Verschiedenheit zwischen dem flockigen und dem tropfenförmigen Niederschlage entdeckte. Wenn nämlich die erstere, welche in ihren Eigenschaften vollständig mit Gundelach's und Strecker's hyocholinsaurem Natron übereinstimmte, in Wasser aufgelöst und die warme, klare, concentrirte Lösung dann abgekühlt wurde, so erstarrte dieselbe vollständig zu einer dünnen, breiartigen Masse, bestehend aus den voraus erwähnten, gefälteten Häuten, wohingegen die Wasserlösung der letztern (die im Gegensatz zu der der erstern stets stark gefärbt war) bis zur Syrupsdicke eingedampft werden konnte, ohne dass eine derartige «Krystallisation» sich hätte beobachten lassen.

Da es sich also gezeigt hatte, dass die Schweinegalle, und dies in bedeutender Menge, ein gallensaures Salz enthält,

---

[1]) Ann. d. Chem., Bd. 62, S. 217.

welches der Aufmerksamkeit Gundelach's und Strecker's entgangen war, so glaubte ich, diesem Salze eine nähere Untersuchung widmen zu müssen. Es stellte sich inzwischen aber bald heraus, dass das neue Salz, im Gegensatz zu dem schon bekannten, nur mit grosser Schwierigkeit in reinem Zustand zu erhalten war. Die grosse Leichtlöslichkeit desselben, seine Abgeneigtheit zu krystalliren und die Hartnäckigkeit, mit der es mitfolgende Farbstoffe festhält, legten seiner Isolirung grosse Hindernisse in den Weg, und dies in einem um so höheren Grade, als es mit den andern, schon lange bekannten Salzen die grösste Aehnlichkeit an den Tag legte. Es würde nur wenig Interesse darbieten, wollte ich über alle mehr oder weniger misslungenen Versuche, die ich in dieser Richtung ausgeführt, näher berichten, und ich werde mich daher darauf beschränken, ausführlicher nur die ziemlich umständliche Methode zu beschreiben, welche ich für die Trennung der beiden gallensauren Säuren der Schweinegalle als die beste befunden habe, und über welche in dieser Zeitschrift, wenn auch nur ganz kurz, schon früher berichtet worden ist[1]).

Zuerst jedoch einige Worte über das Material. Durch freundliches Entgegenkommen der Schlachthaus-Aktiengesellschaft in Stockholm wurden die Gallenblasen sämmtlicher an einigen auf einander folgenden Tagen im Schlachthause der Gesellschaft geschlachteten Schweine gesammelt und unterbunden. Die ausgeschnittenen Blasen wurden auf Eis oder in kaltem Wasser aufbewahrt, bis ihre Zahl auf 70—100 gestiegen war, worauf man sie mir übersandte. Von mir wurden dieselben sodann so bald als möglich in Arbeit genommen. Die Galle war also bei ihrer Verarbeitung nicht mehr ganz frisch, doch zeigte der Inhalt der Blasen, so viel ich erkennen konnte, niemals Spuren von Fäulniss, selbst dann nicht, als ich, was einmal der Fall gewesen, die Galle mitten im Hochsommer erhielt (alle die übrigen Gallensendungen habe ich im Winter, im Januar, entgegen ge-

---

[1]) Siehe Bd. XI, S. 417.

nommen und verarbeitet, was, wie später gezeigt werden wird, unleugbar das Zweckmässigste ist). Uebrigens dürfte auch, nach dem zu urtheilen, was von Gundelach und Strecker nachgewiesen worden[1]), selbst eine ziemlich weit vorgeschrittene Fäulniss keine nennenswerthe Zersetzung der gallensauren Salze in der Galle zur Folge gehabt haben. Inwiefern aber der Umstand, dass die Galle nicht mehr ganz frisch war, auf das Vermögen der Galle zu krystallisiren hat einwirken können, darüber vermag ich mich natürlicherweise nicht mit Bestimmtheit zu äussern. Wohl krystallisirt, wie Hammarsten gezeigt, die ganz frische Menschengalle sehr leicht, während dieses mit der bei Sectionen gewonnenen Galle durchaus nicht der Fall ist; aber daraus, dass die Menschengalle innerhalb des todten Körpers eine derartige Veränderung erleidet, dürfte man jedoch nicht den Schluss ziehen können, dass auch die Schweinegalle, wenn sie ausserhalb des Thierkörpers einige Zeit aufbewahrt wird, eine ähnliche Verwandlung erfährt. Um hierüber in das Klare zu kommen, sind vergleichende Versuche mit vollständig frischer Schweinegalle erforderlich, doch ist die Ausführung dieser Versuche aus leicht einzusehenden Ursachen mit verschiedenen Schwierigkeiten verbunden. Vergleicht man hinwiederum die Schweinegalle mit der Ochsengalle, welche im Allgemeinen wohl ebenfalls nicht in vollständig frischem Zustande verarbeitet wird, so ist der von allen Verfassern angemerkte Unterschied im Krystallisationsvermögen schlagend. Es ist mir indessen, wie weiter unten näher gezeigt werden wird, gelungen, die schweinegallensauren Natronsalze, wenn auch mit Schwierigkeiten, in unzweifelhaft krystallisirtem Zustand zu erhalten, was mir dahingegen mit den freien Säuren nur ausnahmsweise geglückt ist.

Die Grösse der Gallenblasen variirte ganz bedeutend. Im Mittel enthielt jede Blase circa 30 cbcm. Galle. Hierbei ist jedoch zu bemerken, dass einige Blasen in Folge fehlerhafter Unterbindung sich zusammengefallen und beinahe ent-

---

[1]) L. c., S. 226.

leert, andere dagegen, welche in Wasser aufbewahrt worden, sich durch Diffusion stark ausgedehnt zeigten, und dass aus diesen Ursachen gallensaure Salze in das Wasser ausgetreten waren, welches deshalb zuweilen auf dieselbe Weise wie die Galle verarbeitet wurde. Das Aussehen der Galle variirte in den verschiedenen Blasen sehr. In den einen zeigte sie sich dickflüssig und fadenziehend, und dann war sie hell (weissgelb) gefärbt, in den andern klar und dünnflüssig, und dann hatte sie oft eine dunkle, braungelbe oder braunrothe Farbe. Die Reaction war schwach alkalisch, der Geschmack intensiv bitter[1]).

Sämmtliche von mir bei verschiedenen Gelegenheiten bearbeiteten Gallenportionen zeigten bei Zusatz von Glaubersalzlösungen ein gleichartiges Verhalten.

Die aus den Blasen entleerte Galle wurde bei fleissigem Umrühren mit einem ungefähr doppelt so grossen Volumen Alkohol vermischt. Hierbei entstand eine reichliche, gelbbraune Fällung, welche hauptsächlich Gallenschleim, ausserdem aber auch Fett, Cholesterin, Farbstoffe und auch kleine Mengen gallensaurer Salze, die mechanisch mitgerissen worden, enthielt. Nachdem die Fällung sich abgesetzt hatte, wurde die alkoholische Lösung, deren Färbung mittlerweile bedeutend dunkler geworden war, abfiltrirt und durch Destillation und Abdünstung von Alkohol befreit. Die übrig gebliebene, concentrirte Wasserlösung bildete eine dunkelbraune, nahezu schwarze Flüssigkeit, welche in Wärme dünnflüssig war, bei Abkühlung sich aber in eine dickflüssige, in der Consistenz dem Syrup ähnelnde Masse verwandelte. Unter dem Mikroskop zeigte diese Masse sich von langen, platten, gleichbreiten, gegen die Enden hin aber zugespitzten, farblosen Nadeln durchsetzt, welche Krystallen zum Verwechseln glichen, bei näherer Untersuchung sich aber von derselben Beschaffenheit wie die oben erwähnten gefalteten Häute erwiesen. Bei Zu-

[1]) Es dürfte vielleicht verdienen bemerkt zu werden, dass in keiner einzigen der ungefähr 450 von mir verarbeiteten Gallenblasen Concremente angetroffen worden sind.

satz von etwas mehr Wasser lösten diese Pseudo-Krystalle sich auf, und die schwarzbraune Flüssigkeit erhielt sich dann leichtfliessend auch bei gewöhnlicher Temperatur.

Wenn diese Flüssigkeit mit einer bei Zimmertemperatur gesättigten Lösung von Natriumsulfat vermischt wurde, so entstand ein reichlicher Niederschlag, dessen Aussehen und Eigenschaften nach den Umständen in der oben beschriebenen Weise variirten. Wurde indessen ein grosser Ueberschuss von Natriumsulfatlösung angewendet, so war die Färbung und Verunreinigung der Lösung durch die braunen Tropfen nur eine höchst unbedeutende, und dies besonders, wenn die Mischung eine niedrige Temperatur hatte. In dem letztgenannten Umstand liegt ohne Zweifel die Erklärung dafür, weshalb die Trennung der beiden Salze in der warmen Jahreszeit viel schwerer war und viel langsamer geschah als im Winter, wo die Lösungen sich mit Leichtigkeit bis zu 0° und darunter abkühlen liessen. Von grösster Bedeutung ist hierbei jedoch sicherlich der Umstand, dass der Salzgehalt der eiskalten Lösung natürlicherweite ein viel geringerer ist als derjenige der bei Zimmertemperatur gesättigten. Der Niederschlag, welcher gewöhnlich von heller gelbbrauner Farbe, also viel heller als die sehr dunkle Flüssigkeit war, wurde ein paar Stunden ruhig stehen gelassen, um sich absetzen zu können, sodann aber, nachdem von ihm die Flüssigkeit abgegossen worden, in ein Seihtuch genommen. Auf diese Weise liess sich ausser der Wasserlösung auch eine grössere oder geringere Menge des braunen Oeles entfernen, welches bei dieser Operation stets in der Fällung angetroffen wurde, selbst wenn dieselbe vorher homogen flockig ausgesehen hatte. Inzwischen wurden die Poren des Seihtuches sehr bald durch die sich zusammenbackende Fällung verstopft, und ausserdem trat das auskrystallisirende Natriumsulfat einem vollständigen Abtropfen der Lösung hindernd entgegen. An ein Auspressen der Fällung war nicht zu denken, denn dieselbe war von so loser Beschaffenheit, dass sie dabei vollständig durch das Seihtuch gedrängt worden wäre. Dieses wurde mit seinem Inhalt deshalb in heisses Wasser gebracht, in dem die Fäl-

lung sich mit Leichtigkeit bis auf eine sehr geringe Menge eines feinen rothbraunen Pulvers (Bilirubin?) löste. Die filtrirte Lösung wurde hierauf im Wasserbad abgedampft, bis dass ein aus ihr herausgenommener Tropfen bei Abkühlung zu einer grauweissen, gelatinösen Masse erstarrte. Unter dem Mikroskop zeigte sich diese Masse aus ebensolchen eigenthümlich gefalteten Häutchen bestehend, welche den Hauptbestandtheil der ursprünglichen Fällung bildeten. Nachdem die ganze Lösung auf diese Weise durch Abkühlung in einen dünnen Brei verwandelt worden war, wurde dieser wieder auf das Seihtuch genommen und das, was dann auf demselben liegen blieb, von Neuem der soeben beschriebenen Behandlung unterworfen u. s. w. Die zuerst erhaltenen, dunkelgrünen Mutterlaugen, welche eine Mischung beider Salze enthielten, wurden apart genommen, aus den letztern, heller gefärbten aber durch Abdampfung neue Portionen des sich in Häuten abscheidenden Salzes gewonnen. Dieses wurde schliesslich einer neuen Umfällung mit Natriumsulfat unterworfen und dann vollständig weiss und, wie man mit dem Mikroskop leicht controlliren konnte, gänzlich frei von eingemischten «Oel»-Tropfen erhalten. Dieses Salz, das ohne Zweifel dasselbe ist, welches Gundelach und Strecker dargestellt und hyocholinsaures Natron benannt haben, werde ich in dem Folgenden als $\alpha$-hyoglykocholsaures Natrium oder kurz als $\alpha$-Natriumsalz bezeichnen. Nach der Ausfällung mit Natriumsulfat wurde die weisse Fällung auf mehrere mittelgrosse Filter genommen und mit diesen sodann getrocknet und mit kochendem 96procentigen oder absolutem Alkohol behandelt, welcher das gallensaure Salz mit Zurücklassung des Natriumsulfats und Filtrirpapiers auslöste. Die alkoholische Lösung, welche eine mehr oder weniger gelbliche Farbe hatte, wurde filtrirt und abgedampft; der Rest gab nach langwährenden Trocknen und Pulverisiren ein rein weisses Pulver.

Die sehr dunkelfarbige Lösung, aus welcher erst das $\alpha$-Natriumsalz ausgefällt worden, wurde durch Erhitzen concentrirt, wobei sich an der Oberfläche der Flüssigkeit eine schwarzbraune, öllähnliche Schicht bildete, die warm dick-

flüssig war, bei Abkühlung sich aber verdickte und dann zäh erschien. Die unterhalb dieser Schicht befindliche, sehr concentrirte Natriumsulfatlösung war jetzt verhältnissmässig wenig gefärbt und konnte nun, wie bereits erwähnt worden, durch erneutes Erhitzen und durch Umkrystallisiren des Glaubersalzes von organischen Stoffen befreit werden. Durch Abkühlung der heissen Lösung so weit, dass die Oberflächenschicht angefangen, etwas dickflüssig zu werden, ohne dass die Natriumsulfatlösung zu krystallisiren begonnen hatte, war es möglich, die letztgenannte Lösung beinahe vollständig abzuheben und dieselbe in grosse Bechergläser zu bringen, in denen dann das Oel, welches bei dem Abheben mitgefolgt war, aufschwamm und an der Oberfläche eine dicke Schicht bildete. Das gesammelte «Oel» löste sich in Wasser mit Leichtigkeit zu einer sehr dunkelfarbigen Lösung von einem intensiv bittern Geschmack auf. Diese Lösung enthielt noch nicht wenig $\alpha$-Salz, wovon man sich leicht durch eine mikroskopische Untersuchung der Fällung überzeugen konnte, welche eine gesättigte Natriumsulfatlösung in ihr verursachte. Um das $\alpha$-Salz aus der Lösung zu entfernen, wurde dieselbe mit beinahe gesättigter Glaubersalzlösung so lange versetzt, bis eine anhaltende emulsionsartige Trübung entstanden war, und sonach bis auf 0° und darunter abgekühlt. Hierbei krystallisirte ein Theil des Natriumsulfats aus, und gleichzeitig setzte sich auch $\alpha$-Salz, mit einer grösseren oder geringeren Menge braunen «Oeles» vermischt, ab, während die überstehende, gesättigte Natriumsulfatlösung, die vollkommen klar und von einer mehr oder weniger rothbraunen Farbe war, noch eine bedeutende Menge gallensauren Salzes aufgelöst enthielt. Durch Concentration der Lösung in Wärme wurde dieses Salz auf die schon beschriebene Weise abgeschieden und dann durch Alkoholbehandlung sowohl von eingemischtem Natriumsulfat, als auch von einer geringeren Menge des mitfolgenden schwarzbraunen Farbstoffes gereinigt, welcher sich leicht löslich in Wasser und daraus durch Säuren fällbar, aber unbedeutend löslich in Alkohol erwies, sofern nicht eine grössere Menge gallensaures

Salz gleichzeitig einwirkte. Die Alkohollösung war jedoch noch immer stark dunkelgelbbraun gefärbt und zeigte eine grünliche Fluorescenz. Bei Abdampfung im Wasserbade gab sie einen zähen Rest, der selbst nach mehrtägigem Trocknen nicht vollständig pulverisirbar war; dahingegen glückte dieses ziemlich schnell bei Erhitzung im Trockenschrank bis zu 100°. Von den dabei sich entwickelnden Alkoholdämpfen wurde der Rest zu einer sehr voluminösen, knitternden Masse aufgelockert, die leicht zu pulverisiren war und ein gelbbraunes Pulver gab. Ich werde im Folgenden dieses neue gallensaure Salz als β-hyoglykocholsaures Natrium oder kurz β-Natriumsalz bezeichnen.

Aus dem oben Gesagten ersieht man leicht, dass man bei dieser Trennung der beiden Salze oft Fractionen erhält, die aus einer Mischung beider in wechselnden Verhältnissen bestehen. Dadurch, dass man auf systematische Weise mit diesen Fractionen ganz ebenso verfährt, wie mit der ursprünglichen Galle, kann man die beiden Salze, wenn auch mit grossem Zeitverlust und grosser Mühe, schliesslich so gut wie vollständig von einander trennen. Ich habe mich bei der Bearbeitung einer grösseren Menge Galle dieser Beschwerde unterzogen, um von dem Verhältniss zwischen den Mengen dieser beiden gallensauren Salze in der ursprünglichen Schweinegalle wenigstens eine ungefähre Kenntniss zu erhalten. Es zeigte sich dann, dass aus dem Inhalt von 203 Gallenblasen, welcher mehr als 6 Liter betrug, 365 gr. β-Natriumsalz, zwar noch unrein und gefärbt, aber doch beinahe vollständig in absolutem Alkohol löslich, und ungefähr 100 gr. wenig gefärbtes α-Salz dargestellt werden konnten. Ausserdem wurden ungefähr 4 gr. von dem erwähnten schwarzbraunen, in Alkohol beinahe unlöslichen Stoffe erhalten. Da die dargestellten gallensauren Salze der bei der ferneren Reinigung unvermeidlichen Verluste wegen in unreinem Zustande abgewogen worden sind, ist den oben angeführten Zahlen zwar keine allzu grosse Bedeutung beizulegen, so viel aber scheint aus ihnen doch unzweifelhaft hervorzugehen, dass die bisher nicht näher beachtete Gallensäure einen der Menge nach bedeu-

tenderen Bestandtheil der Schweinegalle bildet, als die alte Säure, die Gundelach und Strecker beschrieben haben.

Um, wenn möglich, die von einander getrennten Salze in reinem Zustande zu erhalten, wurde folgendes Verfahren angewendet. Das, nach seiner Farbe und seinem Aussehen unter dem Mikroskop zu urtheilen, schon ziemlich reine α-Salz wurde (beinahe vollständig) in absolutem Alkohol aufgelöst. Die heiss filtrirte, concentrirte alkoholische Lösung erstarrte bei Abkühlung allmählich vollständig zu einer gelbweissen, durchscheinenden, vollkommen transparenter Seife ähnelnden Masse von einer, je nach der Menge des Alkohols, mehr oder weniger festen Consistenz. Ein Zusatz von einigen Tropfen Wasser bei gewöhnlicher Temperatur machte diese gelatinöse Masse bald wieder vollständig flüssig. Auch liess sich niemals ein derartiges Erstarren beobachten, wenn nicht absoluter Alkohol als Lösungsmittel angewandt wurde[1]. Die gelatinöse Masse trocknete bald zu erst zähen, nachher spröden gummiähnlichen Klumpen ein. Diese wurden in warmem Wasser gelöst und die Lösung mit Chlorbarium gefällt. Die weisse körnige Fällung wurde abfiltrirt und dann mit Leichtigkeit in kochendem, ungefähr 40procentigen Spiritus gelöst. Hiermit wurde bezweckt, möglicherweise gegenwärtige höhere Fettsäuren zu entfernen, deren Barytsalze bekanntlich in verdünntem Weingeist nicht löslich sind. Bei Abkühlung der filtrirten Spirituslösung fiel eine grosse Menge Barytsalz aus, welches sich unter dem Mikroskop als aus theils amorphen Häutchen, theils kleinen runden Ballen undeutlicher Nadeln, sehr selten aber aus Aggregaten radiär angeordneter Prismen bestehend zeigte. Aus dem Filtrat und dem Waschwasser wurde ebenfalls eine nicht unbedeutende

---

[1] Ein derartiges Verhältniss beobachtete ich nie bei Lösung des β-Salzes in absolutem Alkohol. Nur ein einziges Mal kam es vor, dass eine übrigens nicht sehr concentrirte Wasser-Lösung von (unreinem) β-Salz bei gewöhnlicher Temperatur und unter Umrühren gleich einer Seifenlösung zu einer gelatinösen Masse erstarrte. Eine Erklärung hierfür vermag ich nicht zu geben, und das Phänomen ein zweites Mal hervorzurufen ist mir nicht gelungen.

Menge Bariumsalz erhalten, das theilweisse zu deutlichen, obschon äusserst feinen Nadeln krystallisirte, die sich unter dem Mikroskop aus verfilzten, weichen, flachen Prismen bestehend zeigten, die bei Eintrocknung leicht in amorphe Formen, als Tropfen, Häutchen u. s. w. übergingen. Das gereinigte Bariumsalz wurde durch Erwärmung mit Sodalösung leicht wieder in Natriumsalz verwandelt und dieses dann durch Filtrirung, Abdampfung, Auflösung in Spiritus, erneute Filtrirung, vollständige Eintrocknung und Behandlung des Pulvers mit absolutem Alkohol von fremden Salzen befreit. Die Lösung wurde partiell mit Aether gefällt und die gefärbteren Fractionen durch erneute Ausfällung mit Natriumsulfat (mit darauf folgender Spiritusbehandlung u. s. w.), «Umkrystallisirung» aus Wasser u. s. w. gereinigt.

Weit beschwerlicher war es, das β-Natriumsalz zu reinigen. Nach verschiedenen misslungenen Versuchen, den dunkelbraunen Farbstoff, den dieses Salz so hartnäckig festhielt, zu entfernen, gelang mir dieses schliesslich durch partielle Fällungen mit Aether. Wenn nämlich das erwähnte gelbbraune Pulver in Alkohol (absolutem oder 96procentigem) gelöst und zu der klaren dunkelbraunen Lösung vorsichtig Aether zugesetzt wurde, so entstand eine Fällung, die anfangs bei Schüttelung wieder verschwand, bald aber eine beständige Trübung bildete, welche, wenn die Mischung in Ruhe stehen blieb, sich allmählich als eine sehr dunkel gefärbte, syrupöse Masse zu Boden setzte, worauf die überstehende Flüssigkeit eine viel hellere Farbe zeigte. Diese Flüssigkeit wurde abgegossen und wieder mit etwas Aether versetzt, wo dann eine neue, diesmal weniger stark gefärbte Fällung entstand u. s. w. Die erhaltenen Fällungen wurden, eine jede für sich, in Alkohol gelöst und mit Aether gefällt, und durch eine systematische Wiederholung dieses Verfahrens gelang es, eine sehr dunkelfarbige, in Alkohol beinahe unlösliche Fraction abzuscheiden, die in Allem dem voraus beschriebenen, bei der Trennung der gallensauren Salze erhaltenen Stoffe glich. In dem Verhältniss, in welchem dieser Stoff entfernt wurde, zeigten die Aetherfällungen eine immer

hellere Farbe, bis sie schliesslich schneeweiss und von einer mehr käseähnlichen Consistenz waren; beim Verbleiben in der Flüssigkeit schmolzen sie jedoch zu einem hellgelben Bodensatz zusammen. Wurden sie dahingegen auf das Filtrum genommen, so konnten sie mit Leichtigkeit abfiltrirt werden, begannen auf demselben aber sofort zu einer schwach gelb gefärbten Masse zu verschmelzen, während gleichzeitig eine bedeutende Menge Aether und Alkohol, gleichsam herausgepresst, abrann, wodurch das Volumen der Fällung sich sehr verminderte.

Nachdem der Farbstoff auf diese zwar ziemlich zeitraubende Weise zum grössten Theil entfernt war, wurden sämmtliche Fractionen vereinigt und, um das gallensaure Salz so vollständig wie möglich abzutrennen, mit einem grossen Ueberschuss von Aether versetzt. Ein Theil des Salzes verbleibt zwar immer in Lösung, denn bei dem Abdestilliren der abgesonderten Lösung wurde nachher ein nicht unbedeutender Rest erhalten, der zwar nicht näher untersucht worden ist, ausser gallensaurem Salz aber wahrscheinlich auch Fett und Cholesterin enthielt[1]). Das mit Aether ausgefällte Salz wurde in Wasser gelöst und mit Chlorbarium gefällt. Der hierbei entstehende Niederschlag von β-Bariumsalz wurde im Anfange bei dem Umrühren wieder von dem im Ueberschuss vorhandenen Natriumsalz gelöst. Bei Zusatz von mehr Chlorbarium entstand eine bleibende Fällung. Bisweilen (ehe ich angefangen, zur Trennung der beiden gallen-

---

1) Dass Cholesterin in dem rohen β-Salz vorhanden ist, konnte ich in einem Falle, wo ich vergebens versucht hatte, die β-Säure durch partielle Ausfällung mit Schwefelsäure von Farbstoff zu befreien, direct nachweisen. Ich fand nämlich, dass bei Zusatz von verdünnter Schwefelsäure zu einer Lösung der β-Säure in Natronlauge und dem Abfiltriren ausgefällter Säure sich eine braune, stark sauer reagirende Lösung erhalten liess, und dass, wenn zu dieser sehr vorsichtig 0,1proc. Schwefelsäure gegeben wurde, die Flüssigkeit nach einer Weile Massen von silberglänzenden, sehr kleinen Krystallen enthielt, die unter dem Mikroskop sich als deutliche rhombische Täfelchen erwiesen und nach Abfiltriren und Trocknen eine schneeweisse Masse bildeten, welche sehr schöne und unzweideutige Cholesterinreactionen gab.

sauren Salze eiskalte, gesättigte Glaubersalzlösungen anzuwenden) zeigte sich die zuerst ausgefällte Portion flockiger und weniger zusammengebacken, sowie auch leichter filtrirbar, als die später abgesonderte Hauptmasse der Fällung. Es zeigte sich dann, dass, wenn diese erste Portion für sich durch Behandlung mit Sodalösung wieder in Natriumsalz umgewandelt wurde, dieses bei einer näheren Untersuchung einen Gehalt von α-Natriumsalz aufwies, welches an seinem Verhalten zu Natriumsulfat kenntlich war und von einer unvollständigen Trennung der beiden Salze herrührte. Etwas Derartiges traf nicht ein, wenn zur Trennung der beiden Salze die voraus beschriebene Methode angewandt worden war. Wahrscheinlich lässt sich auf das verschiedene Verhalten der Bariumsalze auch eine Methode für die Trennung der beiden gallensauren Salze gründen; doch habe ich in dieser Richtung keine näheren Untersuchungen ausgeführt.

Der Niederschlag, welcher durch einen Ueberschuss von Chlorbarium in einer Lösung von β-Natriumsalz erzeugt wird, ist in Aussehen und Eigenschaften dem entsprechenden von α-Bariumsalz sehr unähnlich. Sie ist nämlich nicht körnig, sondern entweder dick, käsig oder (bei grösserer Verdünnung) emulsionsartig, in beiden Fällen aber geht sie bald in eine geschmolzene Masse von zäher, pflasterartiger Consistenz über, welche sich am Boden des Gefässes sammelt. Diese Fällung löst sich sehr schwer in absolutem Alkohol, selbst kochendem, sehr leicht aber in warmem, verdünntem Spiritus (spec. Gew. = 0,95). Bei Abkühlung der Lösung fällt wieder ein Theil des Salzes in Form von fein zertheilten Tropfen aus, welche zu einer zähen Flüssigkeit zusammenfliessen. Sowohl in der ursprünglichen Wasserlösung, wie auch, und dies in noch höherem Grade, in der Spirituslösung verbleibt eine nicht unbedeutende Menge des Bariumsalzes in Lösung und kann daraus durch Abdampfen wieder erhalten werden. Dasselbe setzt sich aus den concentrirten Lösungen in der Form von klaren, zähen Tropfen und gewöhnlich ohne jede Spur von Krystallbildung ab. Nur ein einziges Mal bemerkte ich in einer kleineren Quantität derartiger farbloser Tropfen, welche

sich aus einer weingeistigen Lösung abgesetzt hatten, nach ruhigem Stehen während einiger Zeit in gewöhnlicher Zimmertemperatur Krystallisationen, indem in jedem Tropfen radiär angeordnete kleine Prismen von dem zuweilen bei dem α-Bariumsalz beobachteten Aussehen entstanden; nach einer kurzen Eintrocknung waen diese Krystallisationen jedoch wieder vollständig verschwunden, und das Ganze bildete nun eine firnissartige, von unzähligen Rissen durchzogene Masse.

Das pflasterartige β-Bariumsalz liess sich leicht eintrocknen und pulverisiren. Nachdem dieses geschehen, wurde es, um es wieder in Natriumsalz überzuführen, mit Sodalösung erwärmt, die Lösung von ausgefälltem Bariumcarbonat abfiltrirt und zur Trockne eingedampft, der Rest mit Alkohol behandelt, die Lösung von fremden Salzen abfiltrirt, vollständig eingetrocknet und pulverisirt, wieder in absolutem Alkohol gelöst und diese Lösung dann mit Aether in der voraus beschriebenen Weise partiell gefällt. Durch diese Behandlung wurde eine fernere kleine Quantität Farbstoff, Kochsalz u. s. w. entfernt. Die hernach mit Aether ausgefällten Fractionen waren bei der Ausfällung alle rein weiss, schmolzen dann aber zu schwach gelb gefärbten Massen zusammen, deren concentrirte Lösungen in Wasser oder Alkohol eine schwache, gelbe Färbung zeigten, während die verdünnten Lösungen beinahe farblos waren. Da diese schwache, gelbe Farbe sich trotz wiederholter Behandlung mit Aether unverändert erhielt, so dürfte sie vielleicht dem reinen β-Natriumsalz selbst angehören. Sämmtliche erhaltene Fractionen, auch die, welche bei Eindampfung der letzten ätherhaltigen Mutterlaugen zur Trockne gewonnen wurden und sich jetzt von den andern nicht mehr unterschieden, gaben bei Eintrocknung (im Trockenschrank bei circa 100°) und Pulverisirung des voluminösen, aufgeblätterten Restes ein beinahe rein weisses Pulver. Dieses hatte anfangs einen schwachen, doch deutlich süssen Geschmack, welcher aber bald verschwand, um einem intensiv bittern Platz zu machen. Ein derartiger süsser Vorgeschmack war bei dem α-Natriumsalz nie wahrzunehmen, dahingegen aber erschien sein bitterer Geschmack noch intensiver.

Wenn eine Wasserlösung des β-Natriumsalzes freiwillig bis zu gewöhnlicher Temperatur abdünsten durfte, entstand, wie schon erwähnt worden, nie eine solche Pseudokrystallisation, wie sie das α-Salz zeigte. Beim Eindampfen der Lösung aber bis zu einem dicken Syrup erhielt sie nach und nach ein trüberes Aussehen, und bei mikroskopischer Untersuchung zeigte es sich sodann, dass der syrupöse Rest Massen von platten, spitzigen, sehr kleinen und weichen Krystallnadeln enthielt, deren Menge immer mehr wuchs, welche aber von der zähen Mutterlauge nicht zu isoliren waren, weshalb alles bald zu einer glänzenden, gummi- oder firnissähnlichen Masse zusammentrocknete. Da es mir auch auf keine andere Weise gelang, das β-Natriumsalz oder eine andere β-Verbindung zum Krystallisiren zu bringen, so dass die Eigenschaft dieses Salzes als chemisches Individuum hätte dargethan werden können, so blieb mir nichts Anderes übrig, als auf analytischem Wege zur Klarheit darüber zu kommen zu suchen, ob die neue Gallensäure eine chemische Verbindung oder eine Mischung verschiedener Stoffe ist.

In Betreff der analytischen Methoden mag nur erwähnt werden: die Bestimmungen von Kohlenstoff und Wasserstoff wurden durch Verbrennung mit Bleichromat in geschlossener Röhre auf gewöhnliche Weise ausgeführt, jedoch gewöhnlich mit Abschluss der Verbrennung in einem langdauernden Sauerstoffstrom, indem die Erfahrung zu zeigen schien, dass eine vollständige Verbrennung des Kohlenstoffs auf andere Weise schwerlich zu erreichen war.

Der Stickstoff wurde stets nach Kjeldahl's jetzt so allgemein angewendeter Methode in der von ihm ursprünglich angegebenen Weise[1]) bestimmt, nur mit dem Unterschied, dass die entwickelte Ammoniakmenge durch Wiedertitrirung des Destillats mit verdünnter Barytlösung[2]) und Rosolsäure

---

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 22, S. 366.

[2]) Ein Cubikcentimeter derselben entsprach 0,00123 gr. Stickstoff. Ihr Titre veränderte sich kaum, selbst bei jahrelanger Verwahrung. Die Säure, in welche der bei der Analyse entwickelte Ammoniak aufgenommen wurde, hatte denselben Titre wie die Barytlösung.

als Indicator ermittelt wurde, welches Verfahren mir viel sicherer und vortheilhafter als die von Kjeldahl anempfohlene Titrirungsweise zu sein schien. Zur Decomposition wurde zuweilen concentrirte Schwefelsäure allein, öfter aber mit rauchender Schwefelsäure oder Phosphorsäureanhydrid untermischt angewendet und sodann Oxydation mit Kaliumpermanganat vorgenommen. Gewöhnlich musste jedoch mit der Erhitzung mehrere Stunden fortgesetzt werden, bevor die Lösung anfing, eine hellere Farbe anzunehmen; gleichwohl schien dieser letztere Umstand, nach mehreren vergleichenden Versuchen zu urtheilen, für die Gewinnung richtiger Ergebnisse nicht von Nöthen zu sein. Bei der Destillation war die Anordnung getroffen, dass das eine abgemessene Menge verdünnter Schwefelsäure enthaltende Gefäss, in welches das Destillat aufgenommen werden sollte, verschlossen und mit einer Ableitungsröhre versehen war, die in einen kleinen Becher mit Wasser hinabhing. Der Zweck dieser Anordnung war der, das Ammoniakgas aufzunehmen, das möglicherweise von der Schwefelsäure, in welche die Röhre, durch die das Destillat abrinnt, wie bekannt nicht hinabreichen darf, nicht gebunden würde. Das Wasser in dem kleinen Becher wurde deshalb mit dem Destillat stets vor der Titrirung vereinigt[1]). Die Destillation geschah in einem mit Zinnröhre versehenen Apparat, wodurch aller Gefahr, dass die warmen Dämpfe aus dem Glas Alkali auslösen könnten, vorgebeugt war.

Der Schwefel wurde als Bariumsulfat nach Verbrennung mit Soda und Salpeter bestimmt. Hierbei wurde eine Correction für den Schwefelsäuregehalt der angewandten Reagentien angebracht, weil es mir trotz wiederholter Versuche nicht geglückt war, absolut schwefelfreie Soda zu erhalten. Bei einer Anzahl Versuche kam anstatt Soda Natriumhydrat (aus Natriummetall bereitet) zur Anwendung, welches sich vollständig frei von Schwefelsäure zeigte, was auch der Salpeter war,

---

[1]) Dieses dürfte in den meisten Fällen zwar nicht von Nöthen gewesen sein, das eine oder andere Mal aber (z. B. bei Analysen von Glykokoll) hatte das Wasser in dem kleinen Becher jedoch alkalische Reaction.

so dass eine Correction sich dann nicht als nöthig erwies. Das geglühte Bariumsulfat wurde vor der Abwägung stets durch eine Behandlung mit verdünnter Salzsäure gereinigt.

Die übrigen Stoffe wurden nach den gewöhnlichen, allgemein bekannten Methoden bestimmt. Bei den Alkalibestimmungen wurde gewöhnlich nach Kämmerer's Methode verfahren[1]).

Das auf die oben beschriebene Weise gereinigte β-Natriumsalz war bei der letzten partiellen Fällung mit Aether in sieben, hinsichtlich der Menge ziemlich ungleiche Fractionen getheilt worden, die besonders getrocknet und pulverisirt wurden. Proben wurden von ihnen allen mit folgenden Ergebnissen analysirt:

I. = 46,6 gr. 0,3334 gr., getrocknet bei ca. 150°, gaben 0,7896 gr. $CO_2$ und 0,2799 gr. $H_2O$. 0,5546 gr. gaben 0,085 gr. $Na_2SO_4$ = 4,96 % Na.

II. = 10,3 gr. 0,3808 gr., getrocknet bei 140—150°, gaben 0,9062 gr. $CO_2$ und 0,3138 gr. $H_2O$.
0,5998 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 13,36 cbcm. Säure = 0,016433 gr. N odet 2,74 %.

III. = 28,9 gr. 0,3317 gr., getrocknet bei 120—140°, gaben 0,7996 gr. $CO_2$ und 0,2878 gr. $H_2O$.

IV. = 8,2 gr. 0,2540 gr., getrocknet bei 140—150°, gaben 0,6146 gr. $CO_2$ und 0,2168 gr. $H_2O$.

V. = 20,2 gr. 0,3992 gr., getrocknet bei 120—140°, gaben 0,9621 gr. $CO_2$ und 0,3260 gr. $H_2O$.

VI. = 7,6 gr. 0,3885 gr., getrocknet bei 130—153° (halb geschmolzen), gaben 0,9227 gr. $CO_2$ und 0,3157 gr. $H_2O$.

VII. = 30,4 gr. 0,4428 gr., getrocknet bei 150—160°, wobei die Substanz zu einem gelben Glase zusammenschmolz, das nachher pulverisirt wurde, gaben 1,0422 gr. $CO_2$ und 0,3633 gr. $H_2O$.

Werden diese Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen zusammengestellt, so erhält man für die sieben Fractionen, in Procenten berechnet:

| | I. | II. | III. | IV. | V. | VI. | VII. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kohlenstoff . . . | 64,59 | 64,90 | 65,75 | 65,99 | 65,73 | 64,77 | 64,19. |
| Wasserstoff . . . | 9,33 | 9,16 | 9,64 | 9,48 | 9,07 | 9,03 | 9,12 |

1) Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 7, S. 221.

Anlässlich dieser Ergebnisse wurden einerseits die Fractionen I, II, VI und VII, andererseits die Fractionen III, IV und V zu je einer grossen Portion vereinigt, welche beiden Portionen wir mit A und B bezeichnen. Der Kohlenstoffgehalt in A würde nach dem Obigen ungefähr 1 % weniger betragen als der in B. Beide Portionen wurden in absolutem Alkohol gelöst, die Lösung fractionirt mit Aether gefällt und die übrig gebliebene Mutterlauge eingetrocknet. Auf diese Weise wurde eine jede der beiden Portionen in drei neue Fractionen getheilt, von denen die erste die unvergleichlich grösste war und die dritte aus dem Eindampfungsrest der Aetherlösung bestand. Sämmtliche auf diese Weise erhaltenen sechs Fractionen wurden mit folgenden Resultaten analysirt:

A. 1. 0,2497 gr., getrocknet bei ca. 120°, gaben 0,5914 gr. $CO_2$ und 0,2111 gr. $H_2O$.

A. 2. 0,4061 gr. (von einer Substanz, die erst zu ca. 150° erhitzt, wobei sie schmolz, dann abgekühlt, pulverisirt und sodann wieder zu 100° erhitzt worden war) gaben 0,9693 gr. $CO_2$ und 0,3367 gr. $H_2O$.

A. 3. Da diese Fraction schon bei 100° schmolz, so wurde bei der Analyse folgendes Verfahren angewandt: Die Substanz wurde zu 145—150° erhitzt, bis dass ihr Gewicht constant wurde, die geschmolzene Masse sodann abgekühlt und pulverisirt, hierauf von ihr zu zwei Proben genommen und von diesen die eine analysirt, die andere aber wieder zu constantem Gewicht eingetrocknet, wobei ein Verlust von 0,86 % entstand, der von der Feuchtigkeit herrührte, welche die stark hygroskopische Substanz bei der Pulverisirung, Abwägung u. s. w. in sich aufgenommen hatte. In Uebereinstimmung mit dieser Feuchtigkeitsbestimmung wurden dann die bei der Verbrennung erhaltenen analytischen Zahlen corrigirt. Diese waren: 0,2248 gr. gaben 0,5417 gr. $CO_2$ und 0,1955 gr. $H_2O$.

B. 1. 0,2620 gr. (getrocknet bei ca. 120°) gaben 0,6245 gr. $CO_2$ und 0,2196 gr. $H_2O$.

0,2532 gr. (ebenfalls bei ca. 120° getrocknet) gaben 0,5927 gr. $CO_2$ und 0,2099 gr. $H_2O$.

0,3016 gr. (bis zu ca. 160° erhitzt, wobei die Substanz schmolz, hierauf abgekühlt, pulverisirt und bei ca. 115° zu constantem Gewicht getrocknet) gaben 0,7248 gr. $CO_2$ und 0,2521 gr. $H_2O$.

B. 2. 0,2430 gr. (getrocknet bei ca. 115°) gaben 0,5765 gr. $CO_2$ und 0,2056 gr. $H_2O$.

B. 3. Die Substanz wurde bei 125—135° getrocknet und schmolz dabei. Nach Abkühlung und Pulverisirung wurde sie wieder bei 100° eingetrocknet, wobei Zeichen einer beginnenden Schmelzung auftraten. 0,2718 gr. gaben 0,6544 gr. $CO_2$ und 0,2345 gr. $H_2O$.

Werden diese Analysen, mit Eintragen der corrigirten Zahlen für A. 3 und der Mittelzahl für die Analysen von B. 1, zusammengestellt, so erhält man in Procenten berechnet, für die verschiedenen Fractionen folgende Werthe:

| | A. 1. | A. 2. | A. 3[1]). | B. 1. | B. 2. | B. 3. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kohlenstoff . . . | 64,60 | 65,09 | 66,31 | 64,80 | 64,69 | 65,66. |
| Wasserstoff . . . | 9,39 | 9,21 | 9,65 | 9,27 | 9,40 | 9,58. |

Wie man sieht, sind es nur die Fractionen No. 3, welche hinsichtlich der Zusammensetzung einen bemerkenswerthen Unterschied zeigen, ebenso wie sie auch bei einer bedeutend niedrigeren Temperatur schmolzen als die andern. Zum Theil konnte dieses wohl (aus Gründen, welche ich gleich nennen werde) auf der Einmischung von etwas freier Gallensäure beruhen, doch zeigte es sich, dass diese Fractionen auch einen fremden Stoff enthielten, indem sie sich nicht, gleich den andern, in absolutem Alkohol von der Temperatur des Zimmers klar lösten. Besonders war dieses mit A. 3 der Fall. Als nämlich diese Fraction in kochendem, absolutem Alkohol gelöst wurde, setzte die Lösung bei Abkühlung einen weissen Niederschlag ab. Dieser wurde durch erneute Behandlung mit kochendem absoluten Alkohol gereinigt. Bei Abkühlung der farblosen Lösung setzte sich sodann eine beinahe gelatinöse Masse ab, die unter dem Mikroskop sich aus kleinen runden, stark lichtbrechenden Kugeln mit undeutlich concentrischer Zeichnung bestehend zeigte. Nach Abfiltrirung trocknet diese Masse bald zu weissen, leichten Stücken zusammen, die sich leicht pulverisiren liessen und folgende Eigenschaften hatten. Bei Erhitzung schmolz die Substanz, sodann zersetzte sie sich und verbrannte darauf mit einer leuchtenden Flamme, unter Zurücklassung einer ziemlich grossen Menge Asche, deren Wasserlösung eine stark alkalische

---

1) Ohne die angeführten Correctionen sind die Zahlen für A. 3 = 65,72 % C und 9,66 % H.

Reaction zeigte. Von Aether wurde die Substanz kaum, von Aether + Alkohol etwas besser gelöst; mit Wasser gab sie eine äusserst fein getrübte, opalisirende Flüssigkeit, die sich nicht klar filtriren liess und aus welcher sich bei längerem Stehen ein schimmernder Bodensatz abschied, der unter dem Mikroskop undeutlichen Cholesterintäfelchen glich. Salkowsky's Cholesterinreaction gab indessen einen negativen Ausschlag. Dieser Stoff war offenbar keine Gallensäurenverbindung, denn er zeigte sich vollständig geschmacklos und gab auch keine Pettenkofer'sche Reaction. Er enthielt Stickstoff, dahingegen aber keinen Schwefel, denn ein quantitativer Versuch (wozu jedoch nur 0,0488 gr. genommen werden konnten) zeigte, dass von ihm keine grössere Menge $BaSO_4$ erhalten werden konnte, als beweislich von dem angewendeten Reagens herrührte. Die Asche enthielt keine Phosphorsäure. Die Hauptmenge der Substanz wurde in einem Platinschiffchen im Sauerstoffstrom verbrannt und dabei folgendes Resultat erhalten: 0,1052 gr. gaben 0,1753 gr. $CO_2$ und 0,0693 gr. $H_2O$. Im Platinschiffchen blieben 0,0203 gr. (= 19,29 %) einer weissen, in Wasser löslichen Asche zurück. Für aschenfreie Substanz berechnet, enthielt der Stoff also 56,31 % Kohlen- und 9,07 % Wasserstoff. Aus Mangel an Material konnten leider nicht mehrere analytische Bestimmungen ausgeführt werden.

Aber wenn auch die chemische Natur dieses eigenthümlichen Stoffes nicht näher bestimmt werden konnte, so war derselbe doch offenbar als eine Verunreinigung der β-Hyoglykocholsäure aufzufassen, und um, wenn möglich, jede Spur davon, welche sich vielleicht noch vorfand, zu entfernen, wurden daher die Fractionen A. 1, A. 2, B. 1 und B. 2, die bei den Analysen eine gleichartige Zusammensetzung gezeigt hatten, in absolutem Alkohol gelöst und nach Verlauf von 24 Stunden von der minimalen Trübung abfiltrirt, welche sich dann abgesetzt hatte. Die concentrirte, hellgelbe Alkohollösung wurde mit kleinen Portionen Aether versetzt. Der dabei entstehende käsige Niederschlag, welcher sich im Anfange wieder löste, war rein weiss. Bei Zusatz von etwas

Aether löste der Niederschlag sich viel langsamer, schmolz aber in der Flüssigkeit und bildete dann eine durchsichtige Bodenschicht von einer hellen, gelben Farbe, welche nicht das Geringste dunkler war, als die überstehende Flüssigkeit. Der oben erwähnte dunkle Farbstoff schien also durch die vorhergehende Behandlung vollständig entfernt worden zu sein.

Nachdem Alles wieder gelöst worden war, wurde die Lösung vorsichtig in einen grossen Ueberschuss von Aether gebracht, wobei das Natriumsalz als ein körniger, rein weisser Niederschlag ausschied. Bei zu schnellem Zusatz der Alkohollösung geschah es leicht, dass dieser Niederschlag zu gelblichen Klumpen zusammenschmolz, welche jedoch, der Einwirkung von Aether ausgesetzt, in den eben erwähnten körnigen amorphen Niederschlag bald zerfielen. Dieser wurde ohne Schwierigkeit abfiltrirt und dann mit Aether gewaschen, bis das im Anfange wasserhelle Filtrat sich opalescent zeigte, was wahrscheinlich darauf beruhte, dass das gallensaure Salz sich in reinem Aether etwas weniger schwer löste als in alkoholhaltigem. Wie bereits erwähnt worden ist, verändert der Niederschlag, sobald er den Aether verliert, gleichviel ob dieses durch Auspressung, freiwillige Verdampfung oder sanfte Erhitzung geschieht, seine Beschaffenheit, indem er sich aus einer körnigen, leicht filtrirbaren und schneeweissen in eine klebrige und gelbliche Masse verwandelt. Als der von Aether befreite Niederschlag, um den Alkohol und die Feuchtigkeit (die sich bei der Abdampfung des Aethers condensirt hatte) zu entfernen, bei 100° getrocknet wurde, blätterte die zähe Substanz sich durch die entweichenden Dämpfe auf, so dass sie nach vollständiger Trocknung eine sehr voluminöse, poröse, knitternde Masse bildete, welche nach Pulverisirung und wiederholtem Trocknen ein feines, lockeres Pulver von einer weissen, kaum merklich in das Gelbe spielenden Farbe gab. Von diesem gereinigten Salz wurden im Ganzen ungefähr 104 gr. erhalten. Bei der Analyse gaben:

0,3065 gr. 0,7293 gr. $CO_2$ und 0,2636 gr. $H_2O$, was 64.89 % Kohlenstoff und 9,55 % Wasserstoff entspricht.

Bei dem Abdestilliren der grossen Mengen Aether, welche zu dem soeben beschriebenen Reinigungsprocess angewandt worden waren, wurde ein alkoholischer Rest erhalten, der nach Abdampfen und Trocknen eine gelbbraune Masse gab, die einem weniger reinen β-Natriumsalz ähnelte. Dieser Rest löste sich nicht klar in Wasser; die Lösung hatte saure Reaction und zeigte eine ausserordentlich feine, schimmernde Trübung, welche sich nicht abfiltriren liess und unter dem Mikroskop sich als aus äussert kleinen Stäbchen oder Schüppchen bestehend zeigte. Bei Zusatz von etwas Alkali klärte sich die Lösung sofort, worauf sie sich wie gewöhnliches β-Salz verhielt. Die Ursache zu der sauren Reaction und dem andern, auf der Gegenwart von etwas freier Gallensäure beruhenden, abweichenden Verhalten lag ohne Zweifel darin, dass der Aether Spuren von Schwefelsäure enthielt, die bei dem Abdestilliren sich concentrirt und dann auf das im Aether gelöste gallensaure Salz eingewirkt hatten. In der That liessen sich auch in der Lösung, nachdem alle Gallensäure mit Salzsäure ausgefällt worden, Spuren von Schwefelsäure mit $BaCl_2$ nachweisen, und als eine grössere Menge des trocknen Rückstandes mit absolutem Alkohol behandelt wurde, löste derselbe sich (bei schwach saurer Reaction der Lösung) unter Zurücklassung eines geringen weissen Restes, welcher sich im Allgemeinen auf ganz dieselbe Weise wie die vorher beschriebene Substanz verhielt, bei Behandlung mit Wasser aber theilweise gelöst wurde; in dieser Lösung erzeugte Chlorbarium nach Zusatz von Salzsäure und Abfiltriren ausgefällter Gallensäure eine schwache, doch deutliche Trübung. Hierdurch dürfte sich auch der etwas hohe Kohlenstoffgehalt der vorerwähnten Fractionen A. 3 und B. 3 erklären lassen.

Ausser den in dem Obigen angeführten Analysen des β-Natriumsalzes habe ich auch während früheren Stadien der Arbeit verschiedene Fractionen dieses Stoffes analysirt. Da indessen das analysirte Material in diesen Fällen gewöhnlich keiner so sorgfältigen Reinigung wie die oben beschriebene unterworfen gewesen ist und es sich deshalb auch von einer etwas wechselnden Zusammensetzung gezeigt hat, so dürfte

den Analysen kein so grosser Werth beizulegen sein, daher ich hier auch nicht ihre detaillirte Beschreibung geben, sondern nur ihre Ergebnisse anführen werde. Neun Elementaranalysen gaben, in Procenten berechnet:

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kohlenstoff | 64,17 | 64,60 | 66,75 | 62,52 | 62,35 | 62,89 | 64,67 | 64,76 | 63,41 |
| Wasserstoff | 9,58 | 9,83 | 9,34 | 9,23 | 8,84 | 8.71 | 8,93 | 9,15 | 9,19 |

oder im Mittel 64,01 % Kohlenstoff und 9,20 % Wasserstoff. Drei Stickstoffbestimmungen gaben resp. 2,74, 2,75 und 2,73 % Stickstoff, also im Mittel 2,74 % oder genau eben so viel, wie die Bestimmung des Stickstoffs in der gereinigten Substanz ergab. Das Mittel der Elementaranalysen dieser Substanz (die Analysen der eine abweichende Zusammensetzung zeigenden Fractionen A. 3 und B. 3 jedoch ausgenommen) beträgt dahingegen 65,00 % Kohlenstoff und 9,30 % Wasserstoff, beläuft sich also für den Kohlenstoff auf 1 % mehr, als im Mittel die Analysen der weniger sorgfältig gereinigten Substanz gegeben haben.

Die Analysen der verschiedenen Fractionen des am gründlichsten gereinigten β-Natriumsalzes zeigen meines Erachtens indessen eine so gute Uebereinstimmung, als man bei der Untersuchung eines solchen hygroskopischen und schwer zu handhabenden amorphen Stoffes nur erwarten kann. Auf Grund derselben dürfte man daher mit grosser Wahrscheinlichkeit die Gegenwart jedes sich in seiner Zusammensetzung von dem reinen gallensauren Salze wesentlich unterscheidenden verunreinigenden Stoffes ausschliessen können. Dahingegen aber erübrigt die Möglichkeit, dass die untersuchte Substanz einen hinsichtlich seiner chemischen Eigenschaften mit ihr nahe verwandten und dieselbe oder nur eine sehr wenig abweichende Zusammensetzung zeigenden Stoff eingemischt enthalten hat.

Und dieses war hier auch der Fall.

Bei der Untersuchung der Producte, welche bei der Einwirkung von kaustischen Alkalien oder Bariumhydrat auf die fragliche Gallensäure (über welche Untersuchung ich in dem Folgenden näher berichten werde) entstanden, fand ich

nämlich auch eine geringe Menge Taurin. Dieser Umstand deutete die Gegenwart einer Hyotaurocholsäure in dem angewandten Material an, welches in solchem Falle schwefelhaltig sein musste. Dieses war auch mit dem auf die oben beschriebene, umständliche Weise gereinigten β-Salz der Fall, und sein Schwefelgehalt konnte zufolge der bei seiner Darstellung (aus Bariumsalz) und seiner Reinigung angewandten Methoden schwerlich von eingemischtem Sulfat herrühren, sondern es musste der Schwefel in dasselbe in einer organischen Verbindung eingehen. Die Analysen gaben folgendes Resultat:

0,3172 gr., mit einer abgewogenen Menge Soda + Salpeter geschmolzen, gaben mit Correction für die in den Reagentien befindliche Schwefelsäure 0,0187 gr. $BaSO_4$, was 0,00257 gr. S oder 0,81 % entspricht.

0,6336 gr. wurden mit Soda + Salpeter geschmolzen und gaben 0,0371 gr. $BaSO_4$, was 0,0051 gr. S oder 0,80 % entspricht.

Dieser Schwefelgehalt von 0,8 % entspricht einer in dem dargestellten Präparat enthaltenen Einmischung von ungefähr 13 % Natriumhyotaurocholat. Wenn man nämlich annimmt, dass die neue Hyoglykocholsäure die Formel $C_{26}H_{43}NO_5$ habe — welche Formel mir am besten mit der Mehrzahl der analytischen Bestimmungen übereinzustimmen scheint — so muss die entsprechende Hyotaurocholsäure die Zusammensetzung $C_{26}H_{45}NSO_6$ haben, und die procentische Zusammensetzung ist dann für

| | β-Natriumhyoglykocholat, $C_{26}H_{42}NaNO_5$: | β-Natriumhyotaurocholat, $C_{26}H_{44}NaNSO_6$: | Mischung von 87 % Glykocholat, 13 % Taurocholat: | Gefunden bei d. Analyse (im Mittel): |
|---|---|---|---|---|
| Kohlenstoff . | 66,24 | 59,88 | 65,41 | 65,00 |
| Wasserstoff . | 8,92 | 8,44 | 8,85 | 9,30 |
| Natrium . . | 4,88 | 4,41 | 4,82 | 4,96 |
| Stickstoff . . | 2,97 | 2,69 | 2,93 | 2,74 |
| Schwefel . . | — | 6,14 | 0,80 | 0,80 |
| Sauerstoff . . | 16,99 | 18,44 | 17,19 | (17,20) |

Die Ergebnisse der Analysen stimmen also recht gut mit der Annahme einer Einmischung von ungefähr 13 % Hyotaurocholat überein.

Ich versuchte jetzt mehrere Methoden, um die beiden Säuren von einander zu trennen, doch gelang mir dieses leider nur höchst unvollständig.

Am nächsten zur Hand lag es, die Methode zu versuchen, welche, ursprünglich von Strecker angegeben, zur Trennung der Säuren der Ochsengalle angewendet wird, nämlich successive Fällung mit Bleizucker, Bleiessig und Bleizucker + Ammon.

Ein vorbereitender Versuch mit einer geringeren Menge β-Natriumsalz (doch nicht von dem reinsten Präparat) gab folgendes Resultat. Die Lösung des Salzes in Wasser gab mit Bleizucker einen reichlichen, voluminösen, weissen Niederschlag, der sich langsam absetzte. Die über demselben stehende Flüssigkeit war milchweiss und nur mit einiger Schwierigkeit klar zu filtriren. Das klare Filtrat, welches amphoter, aber mit einer überwiegend sauren Reaction reagirte, gab bei Zusatz von mehr Bleiacetat nur eine bei Erwärmung verschwindende Trübung, mit Bleiessig dahingegen einen flockigen Niederschlag, welcher bei Erhitzung in der Flüssigkeit zu braungelben Klumpen zusammenschmolz. Das Filtrat von diesem Niederschlag wurde nicht von Bleiessig allein gefällt, wohl aber bei Zusatz von einer klaren Mischung von Bleiessig und Ammoniak, wo dann eine starke Trübung entstand, die sich bald zu einem flockigen, hinsichtlich der Menge sehr geringen Niederschlag sammelte, von dem eine Probe Pettenkofer's Reaction gab. Aus dem Filtrat von diesem letzten Niederschlag wurden allmählich noch einige weisse, pulverförmige Niederschläge erhalten, welche jedoch aus basischem Bleiacetat und Carbonat bestanden und kaum eine Spur von Gallensäure enthielten.

Die drei Niederschläge, welche bei Zusatz von Bleizucker, Bleiessig und Bleiessig + Ammoniak erhalten worden und von denen der erstere der hinsichtlich der Menge unvergleichlich grösste war, wurden, ein jeder für sich, durch Behandlung mit Soda, in Natriumsalz umgewandelt. Die erhaltenen Lösungen wurden filtrirt und zur Trockne ein-

gedampft, der Rückstand in absolutem Alkohol gelöst, filtrirt (von einem Ueberschuss von Soda) und mit Aether gefällt, der Niederschlag in Alkohol gelöst, bei 100° eingetrocknet, pulverisirt, von Neuem getrocknet und analysirt, wo dann erhalten wurden aus:

0,5351 gr. (aus der Bleizuckerfällung) 0,01825 gr. $BaSO_4$, was 0,0025 gr. S oder 0,47% entspricht;

0,4730 gr. (aus der Bleiessigfällung) 0,0948 gr. $BaSO_4$, was 0,01302 gr. S oder 2,75% entspricht, und aus

0,0973 gr. (aus der Fällung mittelst Bleiessig + Ammoniak) 0,02474 gr. $BaSO_4$, was 0,0034 gr. S oder 3,49% entspricht.

Die aus den mit Bleiessig erhaltenen Niederschlägen dargestellten Präparate, welche in ihrem Aeussern vollständig gewöhnlichem β-Salz glichen, unterschieden sich indessen auch in anderer Hinsicht als in Bezug auf ihren hohen Schwefelgehalt. Sie wurden nämlich nicht durch Salzsäure gefällt, oder auch gaben sie damit höchstens eine Trübung, die sich sofort in einem Ueberschuss von Säure löste. Das aus dem mittelst Bleiessig + Ammoniak erhaltenen Niederschlag dargestellte Natriumsalz wurde von gesättigter Natriumsulfatlösung, selbst in grossem Ueberschuss, nicht gefällt, gab dahingegen aber starke Trübung bei Zusatz von gesättigter Kochsalzlösung.

Durch die angewandte Behandlung schienen also die beiden in dem β-Salz vorkommenden Gallensäuren von einander getrennt worden zu sein, doch war dieses nur sehr unvollständig geschehen, denn in der ersten Fraction, wo der Schwefelgehalt bei vollständiger Trennung hätte = 0 sein müssen, fand sich noch ungefähr $^1/_2$% Schwefel vor, und in der letzten, wo er sich, wie in reinem Natriumhyotaurocholat, auf 6% hätte belaufen müssen, betrug er nur $3^1/_2$%. Durch eine Wiederholung der Behandlung schien jedoch nichts mehr zu gewinnen zu sein, denn als das aus dem Bleizucker-Niederschlag dargestellte Natriumsalz in Wasser gelöst, aus der verdünnten Lösung von Neuem mit Bleizucker gefällt, der Niederschlag in Natriumsalz umgewandelt wurde u. s. w., entstand ein Präparat, dessen Schwefelgehalt nicht

im Geringsten ab-, sondern eher zugenommen zu haben schien, denn

0,4932 gr. gaben (nach Schmelzung mit Soda + Salpeter ganz wie bei den früheren Analysen) 0,0195 gr. $BaSO_4$ = 0,00268 gr. S oder 0,54 %.

Da indessen bei dem jetzt beschriebenen Versuch durch die angewandte Methode wenigstens etwas gewonnen worden war, so zauderte ich nicht, die ganze Quantität des auf die oben beschriebene Weise gereinigten und analysirten β-Salzes derselben Behandlung zu unterwerfen. Die Ergebnisse waren hierbei vollständig den soeben beschriebenen analog. Aus dem ausgepressten Bleizuckerniederschlag wurde ein Natriumsalz mit einem etwas verminderten Schwefelgehalt erhalten, denn

0,4321 gr., mit Soda + Salpeter geschmolzen, gaben 0,0203 gr. $BaSO_4$, was 0,0028 gr. S oder 0,64 % entspricht.

Als aber ein Theil dieses Natriumsalzes in sehr verdünnter Lösung partiell von Neuem mit verdünnter Bleizuckerlösung gefällt wurde, entstand ein Niederschlag, welcher, in Natriumsalz umgewandelt und (gleich den früheren) bei 100° getrocknet, bei der Analyse, diesmal mit Natriumhydrat + Salpeter ausgeführt, folgendes Resultat gab:

0,2398 gr. gaben 0,0119 gr. $BaSO_4$ = 0,0016 gr. S = 0,68 %.

Also keine weitere Verminderung des Schwefelgehaltes.

Der mit Bleiessig allein erhaltene Niederschlag wurde in Natriumsalz umgewandelt und, zum Zwecke der Zerlegung in seine Bestandtheile, erneuter Fällung mit Bleizucker u. s. w. unterworfen. Der mit Bleiessig + Ammoniak erhaltene Niederschlag dagegen, welcher die meiste Hyotaurocholsäure enthalten sollte, wurde in Natriumsalz übergeführt und zeigte dann die oben erwähnten Eigenschaften. Eine kleine Quantität dieses Salzes wurde mit der 8fachen Menge α-Natriumsalz vermischt und dann in Wasser zu einer 1procentigen Lösung aufgelöst. Die Absicht hierbei war, zu erforschen, ob die Gegenwart der Hyotaurocholsäure möglicherweise die Eigenschaften des α-Salzes modificiren und dasselbe dem β-Salz ähnlich oder vielleicht gar mit ihm identisch machen könnte.

Die angestellten Versuche zeigten jedoch, dass die charakteristischen Reactionen des α-Salzes sich mit grösster Leichtigkeit in der Mischung nachweisen lassen. Der Rest des hyotaurocholsauren Salzes wurde bei 100° getrocknet und dann mit folgendem Resultat analysirt:

0,2462 gr. gaben nach Schmelzung mit Salpeter + Soda 0,0805 gr. $BaSO_4$, was 0,01106 gr. S oder 4,49% entspricht;

0,1736 gr. gaben 0,3541 gr. $CO_2$ und 0,1333 gr. $H_2O$, was 55,63% Kohlenstoff und 8,53% Wasserstoff gleichkommt.

Die Analyse zeigt, dass die Substanz auch andere Verunreinigungen als β-hyoglykocholsaures Natron enthielt, denn wenn sie nur eine Mischung von reinem Tauro- und Glykocholat (resp. 73 und 27%) gewesen wäre, die den gefundenen Schwefelgehalt gehabt hätte, würde die Elementaranalyse ungefähr 61,4% Kohlenstoff und 8,9% Wasserstoff gegeben haben. Wahrscheinlich fand sich auch etwas Natriumacetat vor, dessen Entstehen in der Darstellungsweise seinen Grund gehabt haben dürfte. Leider reichte das Material für weitere Versuche nicht aus. Die Analyse widerspricht indessen der Annahme nicht, dass β-Hyoglykocholsäure auch in dieser Fraction mitgefolgt ist.

Es ist bereits erwähnt worden, dass die hyotaurocholsäurereichen Fractionen von Säuren nur sehr unvollständig oder auch gar nicht gefällt wurden. Die Taurocholsäure der Schweinegalle ist demnach, gleich derjenigen der Ochsengalle, leicht in Wasser zu lösen, auch scheint sie, gleich dieser, ausserdem eine gewisse Menge der ihr entsprechenden Glykocholsäure in Lösung halten zu können. Es dürfte daher die Möglichkeit vorhanden sein, durch Ausfällung eine schwefelfreie Hyoglykocholsäure zu erhalten, obschon man dabei, falls die Hyotaurocholsäure sich ebenso leicht zersetzt wie die gewöhnliche Taurocholsäure, risquirt, die ausgefällte Säure von Hyocholalsäure verunreinigt zu erhalten. Die Versuche zeigten indessen, dass die schwefelhaltige Säure bei der Ausfällung der schwefelfreien Gesellschaft leistet. Eine Lösung des aus dem Bleizuckerniederschlag dargestellten Natriumsalzes wurde mit Salzsäure gefällt; die Fällung wurde

sorgfältig gewaschen, bei 100° getrocknet und analysirt, wo dann

0,3828 gr., mit Soda + Salpeter geschmolzen, 0,0178 gr. $BaSO_4$ gaben, was 0,0024 gr. S oder 0,63% entspricht.

Auch wenn die Säure in Alkohol gelöst und diese Lösung mit Wasser versetzt wurde, was eine milchweisse Flüssigkeit gab, aus welcher die ausgefällte Säure sich nur sehr langsam absetzte, erwies sich diese Säure bei der Prüfung noch schwefelhaltig.

Die β-Hyotaurocholsäure, deren Existenz mir theils durch die Nachweisung von Taurin unter die Zersetzungsproducte bei Einwirkung von Baryt auf das β-Salz, theils durch die Möglichkeit, durch partielle Fällung dieses Salzes Fractionen mit einem so verschiedenen Schwefelgehalt wie 0,64 und 4,49% und auch mit im Uebrigen verschiedenen Eigenschaften zu erhalten, genügend erwiesen zu sein scheint, zeigt also so grosse Neigung, bei Reactionen mit der in einer vielfach grössern Menge gegenwärtigen β-Hyoglykocholsäure mitzuschleppen, dass es mir, wie gesagt, nicht gelungen ist, diese beiden Säuren vollständig zu trennen. Sollte eine vollständige Trennung derselben überhaupt möglich sein, so dürfte dieselbe mit Sicherheit sehr grosse Opfer an Zeit, Arbeit und vor Allem an Material fordern.

Die im Folgenden beschriebenen Eigenschaften der β-Säure und der Salze derselben gehören also eigentlich nicht der reinen, sondern der durch Hyotaurocholsäure und ohne Zweifel auch durch kleine Mengen von α-Säure, welche mittelst der angewandten Trennungsmethode nicht zu entfernen waren, verunreinigten β-Säure an.

---

Bei der Beschreibung des Verfahrens, welches ich angewandt habe, um die α- und die β-Säure von einander zu trennen, ist auch das Natriumsalz der letztern mit seinen Eigenschaften geschildert worden. Zur Vervollständigung dieser Schilderung mag indessen folgender Bericht über das Verhalten dieses Salzes zu gewöhnlichen Reagentien hier Platz finden.

Kali- und Natronlauge gaben mit einer verdünnten Lösung von β-Salz eine milchige Trübung, die bei grösserer Concentration sich zu einer schweren, syrupösen, mehr oder weniger stark gelb gefärbten, in Kälte zähen, in Wärme mehr leichtflüssigen Flüssigkeit sammelte. Gesättigte Sodalösung verhält sich auf ungefähr dieselbe Weise. Ammoniak allein verursacht keinen Niederschlag, aber wenn sodann Salzsäure zugesetzt wird, jedoch in keiner grössern Menge, als dass die Reaction sich noch stark alkalisch zeigt, so entsteht eine starke, emulsionsartige Trübung, die sich allmählich zu klebrigen Tropfen sammelt. Directer Zusatz von Salmiaklösung hat dieselbe Wirkung.

Die Einwirkung gesättigter Alkalisalzlösungen werde ich weiter unten beschreiben.

Chlorbarium, Chlorcalcium und Magnesiumsulfat verhalten sich ziemlich gleichartig, indem ihre Lösungen bei vorsichtigem Zusatz einen dicken, weissen, käsigen Niederschlag geben, der sich anfangs wieder in einem Ueberschuss von gallensaurem Salze löst, nachher aber permanent wird und schnell zu einer klebrigen, syrupösen Masse zusammenschmilzt. Die Niederschläge lösen sich in Wasser, in warmem besser als in kaltem, ziemlich gut, so dass in sehr verdünnten Lösungen kein Niederschlag entsteht, selbst dann nicht, wenn das Reagens in grossem Ueberschuss zugesetzt wird.

Eisenchlorid erzeugt einen rostgelben, gelatinösen und voluminösen Niederschlag, welcher beim Kochen mehr pulverförmig und compact wird, aber nicht schmilzt.

Silbernitrat giebt einen weissen, sehr voluminösen Niederschlag, welcher sich im Anfange in Ueberschuss von gallensaurem Salze löst; bei dem Kochen wird der Niederschlag schwerer und mehr pulverförmig, schmilzt nicht, nimmt aber bald eine dunkle Farbe an.

Quecksilberchlorid giebt mit einer verdünnten Lösung von β-Salz eine schwache Opalescenz, welche bei mässiger Erwärmung bedeutend stärker wird, beim Kochen aber bei-

nahe verschwindet, um dann bei der Abkühlung wiederzukommen.

Andere Salze schwerer Metalle (Ferrosulfat, Zinksulfat, Mangansulfat, Kobaltnitrat, Nickelnitrat, Chromalaun, Mercuronitrat, Kupfersulfat, Bleiacetat, Zinnchlorür) geben reichliche, flockige, gelatinöse oder käsige Niederschläge von einer auf der Natur des Fällungsmittels und der Concentration der Lösung beruhenden Farbe und Beschaffenheit, welche alle bei Erhitzung in der Flüssigkeit schmelzen.

Verdünnte Säuren, Mineralsäuren ebensowohl wie Essigsäure u. a., erzeugen einen reichen, flockigen, bald zusammenbackenden Niederschlag, aus freier β-Hyoglykocholsäure bestehend, welcher in einem Ueberschuss von concentrirter Säure löslich ist. Bei vorsichtigem Zusatz sehr verdünnter Säure (z. B. Zehntelnormal-Salzsäure) löst sich der im Anfange entstehende Niederschlag wieder, und dieses geschieht so lange, dass die β-Salzlösung, welche ursprünglich alkalische Reaction zeigt, schon längst eine stark saure Reaction angenommen hat, ehe noch eine permanente Trübung durch ausgefällte β-Säure bemerkbar geworden ist. Vermuthlich entsteht hierbei irgend ein saures lösliches Salz. — Das Entstehen sämmtlicher oben genannter Niederschläge wird durch Alkohol verhindert.

Normaler, stark sauer reagirender Urin fällt eine Lösung von β-Salz nicht, und ganz dasselbe ist mit einer Lösung von Natriumphosphat der Fall, welcher so viel freie Phosphorsäure zugegeben ist, dass die Reaction schwach, aber deutlich sauer ist.

Eine Lösung von Pepton (Handelswaare) giebt mit einer Lösung von β-Salz eine feine, emulsionsartige Trübung, welche sich leicht und klar in einem Ueberschuss von gallensaurem Salze löst.

Lässt man eine klare, nicht allzu concentrirte Lösung von β-Salz in Wasser so stehen, dass die Luft zu ihr freien Zutritt hat, so wird sie in der Regel in einigen Tagen trübe, und es setzt sich dann ein Bodensatz ab, der sich unter

dem Mikroskop aus Hefenpilzen und Bacterien wechselnder Formen bestehend zeigt. Wird die Lösung hinwiederum durch Aufkochen (wobei sie bedeutend schäumt) in einem mittelst eines Baumwollenpfropfens verschlossenen Kolben sterilisirt, so kann sie sich jede beliebige Zeit unverändert erhalten. Um zu sehen, ob die Entwickelung von Bacterien eine Zersetzung der β-Säure mit gleichzeitiger Bildung entsprechender Cholsäure herbeiführen könnte (was bei den Ochsengallensäuren der Fall ist), liess ich eine Lösung von β-Salz mehrere Monate hindurch stehen und bei gewöhnlicher Temperatur faulen. Hierbei entwickelten sich Massen von Bacterien, ein starker fauler Geruch machte sich bemerkbar und die Lösung erhielt eine dickflüssige, in hohem Grade schleimige und fadenziehende Beschaffenheit. Die aus dieser Lösung ausgefällte, nicht weiter gereinigte, über Schwefelsäure ausgetrocknete Säure gab bei der Analyse folgendes Resultat:

0,2828 gr. gaben 0,6939 gr. $CO_2$ (= 66,9 % C) und 0,2418 gr. $H_2O$ (= 9,5 % H).

0,4227 gr. neutralisirten bei der N-Bestimmung 4,9 cbcm. Säure (= 1,42 % N).

Die Analysen zeigen also, dass die Säure noch ungefähr die Hälfte ihres ursprünglichen Stickstoffgehaltes enthielt und mithin noch lange nicht vollständig durch den langwierigen Fäulnissprocess zersetzt war.

In Uebereinstimmung mit den Salzen anderer Gallensäuren (mit Ausnahme derjenigen der α-Hyoglykocholsäure) zeigt sich auch eine Wasserlösung des β-Natriumsalzes optisch activ. Dieselbe ist nämlich rechtsdrehend, obschon nur sehr schwach. Bei der Bestimmung der specifischen Rotation wurde der Werth $(\alpha)_D = +3{,}66^0$ erhalten. Zu bemerken ist jedoch, dass diese Bestimmung, gleichwie die in dem Folgenden angeführten, mit Wild's kleinerem Polaristrobometer, also nur mit einer Röhrenlänge von 10 cm. ausgeführt ist.

Von den übrigen Salzen der β-Hyoglykocholsäure sind folgende näher untersucht worden:

Das Kaliumsalz. Bereitet durch Auflösung der β-Säure in einer Kaliumcarbonatlösung, Eindampfung zur Trockne,

Extraction des Rückstandes mit Alkohol, Fällung der alkoholischen Lösung mit Aether, Lösung des ausgefällten Salzes in Wasser, sowie Eindampfung der Lösung, zeigte dieses Salz im Grossen und Ganzen dieselben Eigenschaften wie das Natriumsalz. Die zu einem zähen Syrup verdichtete Wasserlösung wurde bei Abkühlung weisslich trübe, doch waren bei mikroskopischer Untersuchung in ihr keine deutlichen Krystalle, sondern nur eine undeutlich körnige Masse wahrzunehmen.

0,5690 gr. (getrocknet bei 100°) neutralisirten bei der N-Bestimmung 12,35 cbcm. Säure, was 0,01519 gr. N oder 2,67 % entspricht.

0,4422 gr. gaben 0,0820 gr. $K_2SO_4$ oder 8,32 % K.

0,8240 gr. gaben 0,0351 gr. $BaSO_4$, was 0,58 % S entspricht.

Eine Mischung von 90 % $C_{26}H_{42}KNO_5$ und 10 % $C_{26}H_{44}$-$KNSO_6$ würde 2,84 % N, 7,96 % K und 0,59 % S enthalten.

Das Ammoniumsalz. Zuerst mit Salmiak ausgeschieden und dann mit Aether aus alkoholischer Lösung gefällt, bildete es einen weissen, käseähnlichen Niederschlag, der bald unter dem Aether zu einer gelblichen, syrupösen Masse zusammenschmolz, welche selbst nach Monaten noch keine Anzeichen einer Krystallisation zeigte.

Das Bariumsalz. Darstellung und Eigenschaften desselben sind bereits im Obigen beschrieben worden.

0,4394 gr. bei 100° getrockneten Salzes gaben 0,9112 gr. CO und 0,3061 gr. $H_2O$, was 56,56 % C und 7,74 % H entspricht.

0,6717 gr. aus Spiritus ausgefallenen, über Schwefelsäure getrockneten Salzes gaben 0,1183 gr. $BaCO_3$ oder 12,25 % Ba. Die Formel $C_{26}H_{42}baNO_5 + 2H_2O$ fordert 56,47 % C, 8,32 % H und 12,39 % Ba[1]).

Das Calciumsalz gleicht in allen Hinsichten dem Bariumsalz, scheint aber in Alkohol noch leichter löslich zu sein. Das mit Aether aus der Alkohollösung ausgefällte und bei 100° getrocknete Salz wurde analysirt, und so gaben dann:

0.4220 gr. 1,0384 gr. $CO_2$ und 0,3565 gr. $H_2O$.

---

[1]) Selbstredend bestand auch dieses und die folgenden Salze aus Mischungen mit hyotaurocholsauren Salzen. Ich habe es jedoch nicht als nothwendig erachtet, in jedem einzelnen Fall den Schwefelgehalt zu bestimmen.

Dieses enspricht 67,31 % Kohlenstoff und 9,38 % Wasserstoff, während die Formel $C_{26}H_{42}caNO_5$ resp. 66,67 und 8,97 % fordert.

Das Magnesiumsalz. Wenn eine concentrirte Lösung von β-Natriumsalz tropfenweise mit einer concentrirten Magnesiumsulfatlösung versetzt wird, so entsteht ein dicker, weisser Niederschlag, der sich im Anfange bei dem Umrühren wieder löst, dann aber permanent wird und bald zu einem zähen Syrup am Boden des Gefässes zusammenschmilzt. Bei dem Decantiren der überstehenden Flüssigkeit und Behandlung der Fällung mit Wasser geht dieser Syrup zum grössern oder geringern Theil in weisse Flocken über, welche sich unter dem Mikroskop aus kleinen, platten, stumpfen, oft sternenförmig zusammengewachsenen Krystallnadeln bestehend zeigen. Nach dem Abfiltriren trockneten diese Krystalle bald zu spröden, durchscheinenden Massen zusammen, die sich ohne Schwierigkeit pulverisiren liessen.

0,2107 gr. an der Luft getrockneten Salzes verloren bei 100—105° 0,0241 gr. oder 11,44 % an Gewicht. Dieses entspricht am nächsten der Zusammensetzung $C_{26}H_{42}mgNO_5 + 3^1/_2 H_2O$, wo der Wassergehalt ist = 12,04 %.

Die Formel $C_{26}H_{42}mgNO_5 + 3 H_2O$ fordert 10,51 % Wasser.

0,6482 gr. eines Präparates, welches durch Lösung des ausgefällten Salzes in Alkohol, Ausfällung mit Aether und Trocknung bei 100° bereitet worden, gaben bei dem Glühen 0,0300 gr. MgO, was 2,77 % Mg entspricht.

Die Formel $C_{26}H_{42}mgNO_5$ fordert 2,61 % Mg.

0,7658 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 17,7 cbcm. Säure, was 0,02128 gr. N oder 2,78 % entspricht.

Die Formel fordert 3,04 %.

Das Silbersalz. Gefällt mit Silbernitrat aus einer Lösung von β-Natriumsalz, bildet dasselbe einen sehr voluminösen, gelatinösen Niederschlag. Dieser wurde in Alkohol gelöst und mit Aether gefällt, abfiltrirt und dann bei gewöhnlicher Temperatur ohne Zutritt des Lichtes getrocknet. Derselbe wurde jedoch nicht unbedeutend dunkler, und als er sodann, nach Pulverisiren bei 100°, getrocknet wurde, zeigte er die Tendenz zu schmelzen und nahm dabei eine sehr dunkle, schwarzbraune Farbe an. Der Verlust an Gewicht

hierbei belief sich jedoch nur auf ungefähr 1 %. Zwei Bestimmungen des Silbergehaltes des getrockneten, ohne Zweifel etwas veränderten Salzes gaben 19,44 und 19,76 % Silber; die Formel $C_{26}H_{42}AgNO_5$ fordert 19,42 % Ag.

Das Bleisalz. Der weisse, voluminöse, bei Erhitzung in der Flüssigkeit schmelzende Niederschlag, der durch Bleizucker in einer Lösung von β-Natriumsalz hervorgerufen wird, ist, gleich dem ihm entsprechenden α-Salz, kein neutrales, sondern ein basisches Salz, oder vielmehr eine Mischung von Bleihyoglykocholat und Bleioxydhydrat in wechselnden Verhältnissen. Die im Wasserbad ausgetrocknete Fällung wurde pulverisirt und sodann bei 95° noch mehr getrocknet, wobei das Salz bereits zu schmelzen begann.

0,5407 gr. gaben beim Glühen einen Rückstand von 0,1224 gr., welcher, als PbO berechnet, 21,01 % Pb entspricht.

0,2652 gr. gaben 0,0597 gr. Glühungsrückstand = 20,89 % Pb.

Die Formel $C_{26}H_{42}pbNO_5$ fordert nur 18,77 % Blei.

Das Kupfersalz. Auch dieses hat eine wechselnde Zusammensetzung und scheint sich wie das entsprechende Salz der α-Säure zu verhalten. Eine mässig verdünnte Lösung von β-Natriumsalz wird von Kupfersulfat so vollständig gefällt, dass das Filtrat bei Zusatz von Säure keine Trübung zeigt. Der Niederschlag wurde mit kaltem Wasser ausgewaschen (wobei er sich in geringer Menge löste), bis das Filtrat nicht mehr für Schwefelsäure reagirte, ausgepresst und bei 100° getrocknet.

0,5639 gr. gaben 0,0494 gr. Kupferoxyd, entsprechend 6,99 % Cu.

Der Niederschlag schien also wenigstens hauptsächlich aus neutralem Salz (die Formel $C_{26}H_{42}cuNO_5$ fordert 6,61 % Kupfer) zu bestehen, aber als er in 96procentigem Alkohol gelöst wurde, schied bei Abkühlung ein Theil aus, der mit Weingeist eine sauer reagirende Lösung gab, aus deren Filtrat nach Fällung mit Aether und Auspressung der ausgefällten Substanz, Trocknen, Pulverisiren und erneutem Trocknen bei 100° ein Salz oder wahrscheinlicher eine Mischung von basischer Natur erhalten wurde, denn

0,3074 gr. gaben 0,0345 gr. CuO, entsprechend 8,96 % Cu.

0,4414 gr. gaben 0,0501 gr. CuO, entsprechend 9,06 % Cu.

Es hat also den Anschein, als ob das neutrale Kupfersalz sehr leicht zu Mischungen von saurer und basischer Beschaffenheit zersetzt würde.

Die freie β-Hyoglykocholsäure gleicht in den meisten Hinsichten sehr der vorher bekannten Schweinegallensäure. Ausgefällt mit einer hinreichenden Menge verdünnter Mineralsäure oder Essigsäure, bildet sie einen voluminösen, flockigen, weissen Niederschlag, welcher bald zu einer zähen, mehr oder weniger klebrigen, seideglänzenden Masse von einer in das Gelbe stossenden Farbe zusammenbäckt. Hat die Fällung bei gewöhnlicher Temperatur stattgefunden, so wird diese Masse bald ziemlich hart und fest, aber in diesem feuchten Zustand wird sie schon durch die Wärme der Hand erweicht und dann knetbar wie Wachs, um bei gelinder Abkühlung gleich wieder spröde zu werden. Ist die Säure dahingegen getrocknet worden, so kann sie in pulverisirtem Zustand in Wasserbadwärme erhitzt werden, ohne dass sich ein Zeichen von Schmelzung wahrnehmen lässt, bei einer Erhitzung (im Trockenschrank) bis zu 100° aber beginnt sie zusammenzusintern, und bei einer nur wenig höhern Temperatur schmilzt sie zu einer glasartigen Masse, welche auch bei Abkühlung vollständig klar bleibt. Der Schmelzpunkt lässt sich nicht exact bestimmen, denn die Säure erweicht bei Erhitzung und geht allmählich in den geschmolzenen Zustand über. Die Versuche, welche ich angestellt habe, scheinen indessen darzuthun, dass die Schmelztemperatur auf der Genauigkeit beruht, mit welcher die Säure ausgetrocknet worden ist. So schmolz pulverisirte Säure, welche lange im Exsiccator getrocknet worden war, aber noch 1,4 % Feuchtigkeit enthielt, bei ungefähr 132—137°, während dieselbe Säure, bis zum Schmelzen erhitzt und unmittelbar nach der Abkühlung pulverisirt, nicht eher als bei 150° vollständig schmolz. Die geschmolzene Säure hatte eine gelbbraune Farbe, die um so dunkler war, je höher die Temperatur gesteigert gewesen. Nach Abkühlung giebt sie ein in hohem Grade electrisches Pulver. Bei stärkerer Erhitzung zersetzt sich die Säure unter Abgabe einer bedeutenden Menge theerähnlicher, mit stark

russender Flamme verbrennender und eigenthümlich — beinahe nicotinartig — riechender Destillationsproducte.

Die β-Hyoglykocholsäure löst sich etwas in Wasser. Wird die trockne Säure auf blaues Lackmuspapier gelegt und mit Wasser befeuchtet, so färbt sich das Papier da, wo die Säure liegt, intensiv roth. In Folge dieser Löslichkeit hat die Säure einen, wenn auch ziemlich langsam hervortretenden, ausgeprägt bittern Geschmack. Von Alkohol wird die Säure sehr leicht gelöst und aus dieser Lösung bei Zusatz von Aether ausgefällt, doch verbleibt hierbei ein nicht unbedeutender Theil in der Alkohol-Aethermischung gelöst. Von concentrirter Essigsäure und auch von starken Mineralsäuren wird die β-Säure ziemlich leicht gelöst. Concentrirte Schwefelsäure giebt mit ihr, ebenso wie mit andern Gallensäuren, eine gelbrothe Lösung, die besonders nach mässiger Erwärmung eine starke grüne Fluorescenz zeigt. Von Ammoniak und verdünnten Lösungen von kohlensauren oder kaustischen Alkalien wird die Säure leicht gelöst. Wird dieselbe hinwiederum mit starker Alkalilauge begossen, so verändert sie sich nicht merkbar, doch löst sie sich, nachdem die Lauge abgegossen worden, leicht in Wasser und ist also in Alkalisalz übergeführt worden.

Alle Versuche, die Säure in krystallisirtem Zustand zu erhalten, sind gescheitert. Auch bei sehr langsamer Eindampfung, monatelanger Einwirkung von Aether u. s. w. setzte sie sich stets in der Form von grössern oder kleinern, harzartigen Tropfen ab. Bei Versuchen, die in Spiritus gelöste Säure mit schwacher Natronlauge von bekannter Stärke zu titriren, zeigte es sich, dass neutrale Reaction eintritt, noch ehe $^3/_4$ der berechneten Alkalimenge zugesetzt sind. Auch hat ja, wie schon oben erwähnt worden ist, die Wasserlösung des β-Natriumsalzes deutlich alkalische Reaction.

Wenn die trockne, pulverisirte Säure mit Wasser befeuchtet wird, so nimmt sie dieses allmählich auf und bäckt zu einer, festen, zusammenhängenden, leicht schmelzenden Masse zusammen.

Die β-Säure, in Alkohol gelöst, ist rechtsdrehend. Ihre specifische Rotation wurde bei ungefähr 22° bestimmt und ist $(\alpha)_D = +8,2°$.

Die β-Säure giebt Pettenkofer's Reaction ebenso leicht und mit ungefähr denselben Farbennuancen wie die andern Gallensäuren. Die dabei entstehende rothviolette, grün fluorescirende Lösung zeigte im Spektroskop dasselbe Verhalten wie die andern Gallensäuren, indem sie ein einigermassen deutliches Absorptionsband zwischen D und E, nahe an E, und ein sehr undeutliches, mehr nach dem Violett hin liegendes gab[1]). Des Vergleiches wegen suchte ich die Lage der Mitte des ersten Bandes für mehrere aus verschiedenen Gallensäuren dargestellte Lösungen zu bestimmen. Das Band war jedoch so schwach und undeutlich begrenzt, dass scharfe Ablesungen nicht möglich waren; die angeführten Zahlen sind daher Durchschnittszahlen einer Menge von Ablesungen. Dieselben beziehen sich übrigens direct auf die Scala des angewandten Wrede'schen Instrumentes, auf welcher D von 22,31 E von 19,05 entsprochen wurde. Bei Versuchen mit einer Lösung, dargestellt:

aus β-hyoglykocholsaurem Natrium, lag die Mitte des Bandes bei 19,70,
» β-hyoglykocholsaurem Kalium, » » » » » » 19,60,
» α-hyoglykocholsaurem Natrium, » » » » » » 19,78,
» α-hyoglykocholsaurem Natrium (bei einer anderen Versuchsserie), lag die Mitte des Bandes bei . . . . . 19,74,
» einer Mischung von ochsengallensauren Natriumsalzen, lag die Mitte des Bandes bei . . . . . . . . . . . . 19,97.

Die Differenzen zwischen den verschiedenen Zahlen sind geringer, als die Differenz zwischen den verschiedenen Ab-

---

1) Dieses war — in Uebereinstimmung mit der zuerst von Schenk gelieferten Beschreibung — der Fall, wenn die Reaction durch Zusatz conc. Schwefelsäure zu der Lösung von Gallensäure + Rohrzucker ausgeführt wurde, wo die dabei entstehende Wärmeentwickelung die Reaction vollendete. Wurde hinwiederum von Anfang an schwächere Säure (= concentrirte, mit ihrem halben Volumen Wasser verdünnte) angewendet, so dass die Mischung nachher erwärmt werden musste, so waren die obengenannten Bänder gewöhnlich durch eine diffuse Absorption im Grün und Blau ersetzt, während ein neues, starkes Band im Orange bei 22,9 auf der Scala auftrat.

lesungen für eine und dieselbe Lösung, mithin sicherlich ohne alle Bedeutung.

Bei der Analyse verschiedenartig bereiteter β-Säure wurden folgende Resultate erhalten:

A. Säure mit Wasser aus alkoholischer Lösung gefällt, wieder in Alkohol aufgelöst, eingedampft, bei 100° geschmolzen, pulverisirt und über Schwefelsäure getrocknet, gab aus:

0,4074 gr. 1,0232 gr. $CO_2$ und 0,3489 gr. $H_2O$.

B. Säure, pulverisirt und im Exsiccator mehrere Monate lang getrocknet, gab aus:

0,3799 gr. 0,9617 gr. $CO_2$ und 0,3427 gr. $H_2O$.

C. Säure, geschmolzen, pulverisirt und über Schwefelsäure getrocknet:

0,5837 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 13,4 cbcm. Säure = 0,016528 gr. N.

D. Säure, aus reinstem Natriumsalz gefällt und über Schwefelsäure getrocknet, welche Säure, gemäss besonderer Bestimmungen, 1,43 % Feuchtigkeit und 0,16—0,22, also im Mittel 0,19 % Asche enthielt[1]), gab:

aus 0,3340 gr. 0,8319 gr. $CO_2$ und 0,2926 gr. $H_2O$,
aus 0,2333 gr. 0,5869 gr. $CO_2$ und 0,2098 gr. $H_2O$;
0,6853 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 16,4 cbcm. Säure = 0,02027 gr. N und
0,6637 gr. gaben 0,0254 gr. $BaSO_4$ = 0,0035 gr. S, entsprechend einem Gehalt von ungefähr 8 % β-Hyotaurocholsäure.

In Procenten:

| | | | | Berechnet | Gefunden: | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | für $C_{26}H_{43}NO_5$: | | für 92 % β-Hyoglykocholsäure + 8 % β-Hyotaurocholsäure: | | | | |
| $C_{26}$ | = | 312 | 69,49 | 68,93 | 68,49 | 69,04 | 69,05 | 69,71 |
| $H_{43}$ | = | 43 | 9,57 | 9,52 | 9,51 | 10,02 | 9,73 | 9,99 |
| N | = | 14 | 3,12 | 3,09 | 2,83 | — | 3,01 | — |
| $O_5$ | = | 80 | 17,82 | 17,95 | — | — | — | — |
| | | 449 | 100,00 | S = 0,51 | — | — | — | 0,53 |

---

1) Die Procentzahlen sind nach Abzug für Feuchtigkeit und Asche berechnet.

Als eine Probe der Säure (D) zu circa 140° erhitzt wurde, zeigte sie, nachdem sie 6,08 oder, nach Abzug für die Feuchtigkeit, 4,65 % an ihrem Gewicht verloren, ein nahezu constantes Gewicht. Vielleicht hatte sich hierbei eine Anhydrid $C_{26}H_{41}NO_4$ — welche einen Gewichtsverlust von 4,01 % bedingt — gebildet, aber schon bei 160° trat ein fernerer Gewichtsverlust ein, und die Säure schien im Zersetzen begriffen.

(Fortsetzung folgt.)

---

# Ueber den Saccharomyces apiculatus.

Von

**Dr. Carl Amthor.**

(Der Redaction zugegangen am 24. April 1888.)

Reess[1]) beobachtete, dass der Saccharomyces apiculatus massenhaft bei der Weingährung vorkommt. In den meisten, vielleicht sogar in allen Fällen veranlasst er nach ihm den Beginn der Weingährung und wird dann durch den Saccharomyces ellypsoideus verdrängt. Vom physiologischen Standpunkt aus verhält er sich nach Reess wesentlich wie Sacch. ellypsoideus und S. Cerevisiae.

Pasteur[2]) fand ihn oft im Traubensaft.

Nach Engel[3]) soll er in den meisten Fällen die Gährung der Fruchtsäfte veranlassen.

Engel sowohl, wie Hansen[4]) fanden ihn auch im Bier.

Hansen[5]) studirte genauer seine Lebensbedingungen. Er fand, wie schon Reess und Engel, dass er hauptsächlich auf reifen, süssen Früchten vorkommt und keimt, dagegen nie oder nur ausnahmsweise auf unreifen erscheint. Den Winter über verbringt er nach Hansen (l. c.) in der Erde,

---

1) Reess, Botan. Unters. über die Alkohol-Gährungspilze, 1870.

2) Pasteur, Etudes sur la bière, 1870, S. 148.

3) Engel, Les ferments alcooliques, 1872.

4) Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 1879, S. 49 des französ. Résumé.

5) Meddelelser fra Carlsberg Lab., 1881, III.

hauptsächlich unter den Bäumen und Sträuchern, auf deren Früchten er sich im Sommer findet und die ihm zur Nahrung dienen.

Derselbe Forscher beobachtete weiter, dass der S. apiculatus in Bierwürze Untergährung erzeugt, jedoch erhielt er nie mehr wie 1 Vol.-% Alkohol. Das so erhaltene Bier roch obstartig. Zur Neutralisation der gebildeten Säure in 100 cbcm. wurden bis 2,4 cbcm. Normal-Alkali verbraucht.

Die Schaumdecke, welche bei der Gährung entstand, war viel weniger stark, wie bei anderen Saccharomyceten, die abgesetzte Hefe braun, nicht weiss, wie gewöhnlich.

Der S. apiculatus ist nicht im Stande, den Rohrzucker zu vergähren. In Concurrenz mit dem S. Cerevisiae wird er als der Schwächere schliesslich zurückgedrängt.

Hansen stellte durch seine Untersuchungen fest, dass von Sacch. Cerevisiae und ellypsoideus eine grössere Anzahl von Rassen existirt. Diese Annahme wurde unterstützt durch den Beweis, dass verschiedene Hefen in gleich zusammengesetzter Nährlösung verschiedenartige chemische Arbeit verrichten[1]).

Es schien mir wahrscheinlich, dass auch von S. apiculatus eine Anzahl von Rassen existirt. Da Ascosporen-Bildung bei dieser Hefe noch nicht beobachtet wurde, andere Unterscheidungsmerkmale in morphologischer Hinsicht bei der Aehnlichkeit der Formen aber kaum gefunden werden können, so beschloss ich, die Wirkungen zweier aus Mosten verschiedener Gegenden stammenden Formen des S. apiculatus auf Nährflüssigkeit derselben Zusammensetzung zu studiren.

Zu diesem Zwecke presste ich frische, reife Trauben, filtrirte und sterilisirte sofort den Most in Pasteur'schen 2 Liter-Kolben. Nach 8wöchentlichem Stehen vertheilte ich die Flüssigkeit zu gleichen Theilen in 2 sterilisirte 1 Liter-

---

[1]) Amthor, Studien über reine Hefen. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XII, 1888, S. 64.

Kolben und brachte in jeden aus je einem $^1/_8$ Liter-Kolben 60 cbcm. desselben Mostes, in welchen 8 Tage vorher je eine Zelle des S. apiculatus ausgesät worden war (nach Hansen's Methode). Die eine Zelle stammte aus einem rheinhessischen weissen (Niedersaulheim), die andere aus einem württemberger rothen Most (Heilbronn).

Beide 1 Liter-Kolben wurden unter genau den gleichen Bedingungen gehalten und zwar bei gewöhnlicher Stuben-Temperatur. Die Gährung begann alsbald. Die Schaumdecke war, wie schon Hansen beobachtete, schwach, die abgesetzte Hefe braun, nicht weiss wie bei anderen Saccharomyceten.

Am 3. Januar 1888 waren die Kolben beschickt worden. Am 19. Februar war der mit Sacch. apic. Rheinhessen angesetzte Most fast klar und es konnte keine Entwickelung von Kohlensäure mehr beobachtet werden. Am 28. Februar war das Gleiche der Fall bei dem mit Sacch. apic. Heilbronn angesetzten Most.

Am 6. März wurden die Flüssigkeiten filtrirt; sie waren nach einmaligem Filtriren ganz blank und hatten ein angenehm obstartiges Bouquet. Schon in Bezug auf die Farbe konnte ein beträchtlicher Unterschied bemerkt werden. Most und Weine glichen einer hellen Bierwürze. Setzt man die mittelst des Colorimeters von Stammer ermittelte Farbintensität des Mostes = 100, so war die des Weines aus Sacch. apic. Rheinhessen = 60, die des Weines aus Sacch. apic. Heilbronn nur = 45,3.

Der verwendete Most hatte folgende Zusammensetzung:

| | |
|---|---|
| Specif. Gew. bei +15° C. | = 1,08234 |
| In 100 cbcm. bei +15° C.: | |
| Extract (nach Schultze) | 21,87 |
| Invertzucker | 20,7216 |
| Säure | 1,0125 |
| Fixe Säure | 1,0083 |
| Flüchtige Säure | 0,0033 |
| Stickstoff | 0,0552 |
| Farbintensität nach Stammer (Normal-Farbe = 100) | = 4,17 |

Die Zusammensetzung der vergohrenen Flüssigkeiten war folgende:

| In 100 cbcm. bei + 15° C.: | Sacch. apicul. Rheinhessen: | Sacch. apicul. Heilbronn: |
|---|---|---|
| Alkohol Vol.-% | 3,25 | 4,56 |
| » Gew.-% | 2,58 | 3,65 |
| Glycerin (asche- und zuckerfrei) | 0,3112 | 0,3533 |
| Extract (Schultze) | 16,09 | 13,80 |
| » (direct bestimmt) | — | 13,4340 |
| Invertzucker | 14,228 | 11,20 |
| Säure | 1,0556 | 1,0087 |
| Fixe Säure | 0,8925 | 0,8756 |
| Flüchtige Säure (als Essigsäure berechnet) | 0,1305 | 0,1065 |
| Asche | 0,1984 | 0,1902 |
| Phosphorsäure | 0,0278 | 0,0277 |
| Stickstoff | 0,0421 | 0,0379 |
| Farbintensität nach Stammer | 2,5 | 1,89 |
| Specif. Gew. bei + 15° C. nach dem Entgeisten | 1,06017 | 1,05199 |

Sämmtliche Zahlen sind Mittelwerthe aus 2 gut übereinstimmenden Analysen.

In der chemischen Zusammensetzung der 2 Weine macht sich sonach ein beträchtlicher Unterschied bemerkbar, woraus der Schluss gezogen werden muss, dass von Sacch. apiculatus verschiedene Rassen existiren.

Der Alkohol-, Zucker-, Glycerin-, Stickstoffgehalt, sowie die flüchtige Säure zeigen in beiden Flüssigkeiten bedeutende Abweichungen. Der Gehalt an Gesammtsäure ist fast derselbe geblieben, wie im Most, trotzdem sich während der Gährung beträchtliche Mengen Weinstein abgeschieden haben.

Der Filter-Rückstand des Sacch. apic. Heilbronn von 840 cbcm. Wein wurde titrirt und entsprach = 5,4337 Weinsäure. Angenommen, dass 80 cbcm. Wein im Filter sitzen geblieben sind (was aber sicher zu hoch gegriffen ist), so bleiben nach Abzug der diesen 80 cbcm. entsprechenden Säure noch 4,6268.

| | |
|---|---|
| Fixe Säure aus 920 cbcm. Wein . . . . . . . . | 8,0555 |
| Fixe Säure aus dem Filter-Rückstand . . . . . . | 4,6268 |
| Summa . . | 12,6823 |
| 920 des ursprünglichen Mostes enthielten fixe Säure . | 9,2763 |
| bleibt für 920 cbcm. = | 3,4060 Säure. |

Es sind also für 100 cbcm. = 0,3701 fixe Säure während der Gährung neugebildet worden, ca. 3 mal mehr, wie Pasteur bei Gährung mit gewöhnlicher Hefe fand.

Noch auffälliger ist der hohe Gehalt an flüchtiger Säure. Dieselbe besteht nur zum Theil aus Essigsäure, wie durch Herstellung des Silbersalzes ermittelt wurde. Uebrigens schmeckten die Weine durchaus nicht stichig, wie es der Fall sein müsste, wenn die flüchtige Säure hauptsächlich aus Essigsäure bestände.

Die flüchtige Säure, zu deren weiterer Untersuchung die erhaltene geringe Menge nicht ausreichte, roch angenehm cumarinartig.

Durch mehr oder weniger starke Betheiligung des Sacch. apiculatus bei der Weingährung erklärt sich der oft sehr hohe Gehalt mancher Weine an flüchtiger Säure, ohne dass dieselben einen Essigstich hätten.

Als ich den Sacch. apic. Heilbronn in Bierwürze aussäte, konnte ich in der klaren Flüssigkeit, nachdem die Gährung beendigt war (20 Tage Gährdauer), nur 0,93 Vol.-% Alkohol nachweisen. Aehnliche Beobachtungen machte Hansen. Letzterer (l. c.) scheint anzunehmen, dass der Sacch. apic. überhaupt nicht mehr Alkohol wie 1 Vol.-% erzeugt.

Jörgensen[1]) scheint es wahrscheinlich, dass der Sacch. apic. die Maltose nicht vergährt. Später[2]) spricht er dies bestimmt aus. Versuche darüber konnte ich jedoch nicht auffinden.

---

1) Alfred Jörgensen, Ueber das Verhältniss der Alkohol-Fermente gegenüber der Saccharose. Allgem. Hopfen- und Brauer-Zeitung, 1885, No. 20.

2) Derselbe, Die Mikroorganismen der Gährungs-Industrie, 1886, S. 118.

Boutroux[1]) beobachtete, dass Sacch. apic. in Dextrose-Lösungen starke Gährung erzeugt.

Um das Verhalten des Sacch. apic. gegenüber Maltose- und Dextrose-Lösungen zu studiren, kochte ich Bierwürze derselben Zusammensetzung, wie diejenige, in welcher unser Pilz nur 0,93 Vol.-% Alkohol erzeugen konnte, zur Ueberführung der Maltose in Dextrose mit verdünnter Schwefelsäure, neutralisirte mit kohlensaurem Kalk, brachte auf das ursprüngliche Volumen, filtrirte, sterilisirte im Pasteur'schen Kolben und säte nach einigen Tagen eine Zelle des Sacch. apic. Heilbronn ein. Die Würze hatte in 100 cbcm. 0,0960 Säure (als Weinsäure berechnet) enthalten.

Nachdem die Hauptgährung vorbei, die Gährung aber noch nicht ganz beendigt war (nach 8 Tagen), goss ich etwas von der vergohrenen Flüssigkeit zur Analyse ab.

In 100 cbcm waren jetzt enthalten:

| | | |
|---|---|---|
| Alkohol Vol.-% | 2,62 | |
| » Gew.-% | 2,11 | |
| Säure | 0,2625 | |
| Davon flüchtige Säure | 0,0618 | (als Essigsäure berechnet) |
| Fixe Säure | 0,1853 | |

Es hat sich somit, nachdem durch Kochen der Würze mit Schwefelsäure die Maltose in Dextrose umgeführt worden ist, bei derselben Temperatur und $^1/_3$ der Zeitdauer ca. 3 mal mehr Alkohol gebildet.

Durch diesen Versuch ist bewiesen, dass die Maltose direct durch Sacch. apic. nicht vergohren wird, wohl aber nach Ueberführung in Dextrose.

Während der Gährung der mit Schwefelsäure behandelten Bierwürze haben sich ebenfalls wie bei den Weinen grössere Mengen flüchtiger Säure gebildet, und zwar im Verhältniss zum Alkohol genau so viel, wie bei der Gährung des «Mostes» mit Sacch. apic. Heilbronn.

---

1) Boutroux, Sur l'habitat. et la conservation des levures spontanées. Bull. de la soc. Linnéenne de Normandie, 3. Sér., 4. Vol.

Noch eine andere Betrachtung lässt sich an diesen Versuch knüpfen.

Wenn Sacch. apic. die Maltose nicht vergähren kann, so muss die in der ursprünglichen Würze gebildete geringe Menge Alkohol aus Dextrose entstanden sein.

Dadurch erhält die Angabe von F. Musculus und D. Gruber[1]), welche bei der Einwirkung von Diastase auf Stärke neben Dextrin und Maltose geringe Mengen Dextrose fanden, eine weitere Bestätigung.

In der angegebenen Eigenschaft des Sacch. apiculatus bietet sich auch ein Mittel, kleine Mengen von Dextrose neben viel Maltose (z. B. in Bierwürzen) quantitativ durch die erzeugte Alkoholmenge zu bestimmen.

---

1) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. II, S. 181.

# Ueber das Sauerstoffbedürfniss der Schlammbewohner.

Von

**G. Bunge,**

Professor der physiologischen Chemie in Basel.

(Der Redaction zugegangen am 26. April 1888.)

In einer früheren Arbeit[1]) habe ich gezeigt, dass gewissen parasitisch im Darme lebenden Würmern die Fähigkeit zukommt, lange Zeit ohne Sauerstoff zu existiren und lebhafte Bewegungen auszuführen.

Unter ähnlichen Verhältnissen wie diese Parasiten im Darme leben andere Würmer im Schlamme der Gewässer. Wie im Darminhalte, so werden auch im Schlamme durch die Fäulnissprocesse reducirende Substanzen gebildet, welche den Sauerstoff binden, und die sich entwickelnden Gase — Sumpfgas und Kohlensäure — verdrängen die atmosphärische Luft. Wir müssen daher a priori erwarten, dass die im Wasser lebenden Thiere, welche sich in den Schlamm hineingraben und bisweilen längere Zeit unter der Oberfläche des Schlammes aufhalten, ein lebhaftes Sauerstoffbedürfniss nicht haben, vielleicht sogar längere Zeit ganz ohne Sauerstoff leben können. Die folgenden Versuche bestätigen die Richtigkeit dieser Deduction.

Meinen ersten Versuch machte ich an dem gewöhnlichen medicinischen Blutegel, von dem es bekannt ist, dass er oft lange Zeit unter der Oberfläche des Schlammes am Grunde der Teiche sich aufhält. In ein Reagensglas wird

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 8, S. 48. 1883.

Quecksilber gebracht und ausgekocht, hierauf Brunnenwasser und gleichfalls ausgekocht. Sobald das Glas abgekühlt ist, wird ein Blutegel hinein gebracht, das Glas luftdicht geschlossen und in eine Quecksilberwanne umgestülpt. Ein Luftbläschen ist nicht hinein gelangt. Die Höhe des sperrenden Quecksilbers beträgt aussen und innen am Glase 3,6 cm., das Körpergewicht des Thieres 1,4 gr., das Volumen des Wassers 34 cbcm. Die Bewegungen des Thieres sind während der ersten halben Stunde sehr lebhaft, werden dann schwächer, sind aber noch am Ende des dritten Tages deutlich. Erst am vierten Tage wird das Thier todt gefunden.

Ich stellte nun noch Versuche mit drei anderen Hirudineen an, welche in der Umgebung Dorpat's häufig in Gräben und Pfützen im Schlamme und unter Steinen angetroffen werden. Ein Pferdeegel (Haemopis), 1,3 gr. schwer, wird in 15 cbcm. ausgekochten Teichwassers über Quecksilber abgesperrt. Die Bewegungen sind eine volle Stunde lang sehr lebhaft, werden dann träger. Um die Mitte des zweiten Tages noch Bewegungen. Am dritten Tage todt gefunden. Von zwei Clepsinen, die zusammen in 3 cbcm. ausgekochten Teichwassers über Quecksilber abgesperrt wurden, war die eine schon am zweiten Tage todt, die andere dagegen kroch noch am Anfange des sechsten Tages an der Wand des Reagensglases umher und wurde erst am Ende des sechsten Tages todt gefunden. Eine Nephilis lebte unter denselben Bedingungen 45 Stunden.

Genau in derselben Weise machte ich noch einen Versuch an einer Turbellarie: Planeria torva. Von 4 Exemplaren lebten 3 einen Tag, das 4. zwei Tage.

Den folgenden Versuch stellte ich an einer Species der Gattung Lumbriculus an, welche durch ihren Hämoglobingehalt lebhaft roth gefärbt ist. Dieser Umstand lässt vermuthen, dass diese Thiere ein lebhafteres Sauerstoffbedürfniss haben, als andere Würmer. Auch beobachtet man, dass sie immer nur auf kurze Zeit in den Schlamm am Ufer sich verkriechen, für gewöhnlich aber frei im Wasser spielen. In der That starben sie in Teichwasser über Quecksilber abgesperrt

schon am Anfange des zweiten Tages, obgleich das Wasser bei diesem Versuche nicht ausgekocht worden war.

Noch rascher gingen alle diejenigen Wasserthiere nach Luftentziehung zu Grunde, welche differenzirte Respirationsorgane haben. Schnecken (Limnaeus stagnalis, Physa acuta) starben nach 10 bis 15 Studen. Gliederthiere: kleine Crustaceen, Wasserkäfer (Dytiscus), Asseln (Asellus aquaticus), Wassermilben (Hydrachna) waren schon nach 1 bis 5 Stunden todt.

Es scheint also, dass von den anaërobiotischen einzelligen Wesen bis zu den höchstorganisirten Thieren mit lebhaftestem Sauerstoffbedürfniss alle Uebergänge in der Thierreihe vorkommen. Mit einer weiteren Verfolgung dieser Frage bin ich beschäftigt.

# Neue Versuche über die Tension des Sauerstoffs im Blute und in Oxyhämoglobinlösungen.

Von

G. Hüfner.

(Der Redaction zugegangen am 3. Mai 1888.)

Die Frage nach dem Partiardrucke des Sauerstoffs, unter welchem bei normaler Blutwärme die Dissociation des Oxyhämoglobins beginnt, gehört trotz mannigfacher über diesen Gegenstand angestellter Untersuchungen noch immer zu den nicht völlig befriedigend gelösten Problemen. Zwar durfte man nach den allgemeinen Erfahrungen über Dissociationsvorgänge von vornherein erwarten, dass die Dissociation auch bei diesem Körper bei einer Temperatur von 40° eine grössere sein werde als bei niederer Temperatur; und in der That fand denn auch Paul Bert[1]), dass defibrinirtes, völlig entgastes Hundeblut bei etwas niedrigerem als dem halben Atmosphärendrucke und einer Temperatur von 38° beträchtlich weniger Sauerstoff absorbirt, als das gleiche Blut bei dem gleichen Drucke, aber bei Zimmertemperatur, — ein Beweis offenbar, dass körperwarmes, im Blute befindliches, Oxyhämoglobin schon bei jenem Drucke nicht mehr beständig ist.

Auch gelangten später Fränkel und Geppert[2]) nach einem einfacheren Verfahren zu einem ähnlichen Resultate, insofern sie körperwarmem Hundeblute bei einer Verdünnung der Luft nur bis herab zu 280 mm. Druck schon recht merkliche Sauerstoffmengen entziehen konnten.

---

1) La pression barométrique, recherches de physiologie expérimentale. Paris 1878, p. 687—697.

2) Ueber die Wirkungen der verdünnten Luft auf den Organismus. Eine Experimental-Untersuchung. Berlin 1883, S. 60.

Aus meinen eigenen Versuchen[1]), die gleichfalls bei einer höheren Temperatur (35°), aber nicht mit Blut selbst, sondern mit Lösungen von Hundeblutkrystallen angestellt wurden und die dahin abzielten, den Sauerstoffdruck zu ermitteln, bei welchem die im Gange befindliche Dissociation jedes Mal stille stand, — aus diesen schien hervorzugehen, dass die Grösse der Dissociation, gleichmässige Temperatur vorausgesetzt, nicht bloss vom Drucke, sondern auch noch von der Concentration der Lösung abhängig sei, in dem Sinne, dass mit wachsender Concentration auch der Druck steige, bei welchem die Dissociation stille steht, und dass ferner die Sauerstoffabgabe auch bei schwacher Concentration der Lösung und bei sehr niedrigem Drucke bereits zu einem Zeitpunkte aufhöre, wo immer noch Oxyhämoglobin genug in unzersetztem Zustande vorhanden ist. Als oberste Druckgrenze, bei welcher die Dissociation auch in concentrirteren Lösungen stille stand, stellte sich damals ein Partiardruck von 25 Millimetern heraus; nur in einem Falle, bei einem Versuche mit einer Lösung von Pferdehämoglobin, ging eine Dissociation auch noch oberhalb eines Partiardruckes von 35 mm. vor sich. Die Resultate jener früheren Versuche können indessen auf eine genügende Beweiskraft keinen Anspruch machen, da der damalige Apparat ein völliges Untertauchen unter Wasser nicht erlaubte und nur ein Theil der Operationen, nur das Schütteln, nicht aber die so empfindlichen Druckmessungen, bei höherer und gleichmässiger Temperatur ausführbar waren.

Seitdem ich im Farbstoffe des Rinderblutes ein Material kennen gelernt, das äusserst leicht löslich ist und doch sich jederzeit in reichlichen Mengen gewinnen lässt, habe ich deshalb meine Versuche über die beregte Frage von Neuem aufgenommen. Ich habe das Verhalten des Rinderblutes selbst, in 2 Fällen auch das Verhalten von Hundeblut, mit demjenigen der Lösung von jedes Mal frisch dargestellten Rinderblutkrystallen verglichen, und dazu jetzt einen Apparat benutzt, der nicht nur eine viel sichrere Herstellung und viel gleichmässigere Einhaltung einer bestimmten Temperatur, sondern

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 6, S. 94 ff.

in Folge davon auch eine viel sichrere Druckmessung des angewandten Gasvolumens gestattet. Es ist ein Apparat, der

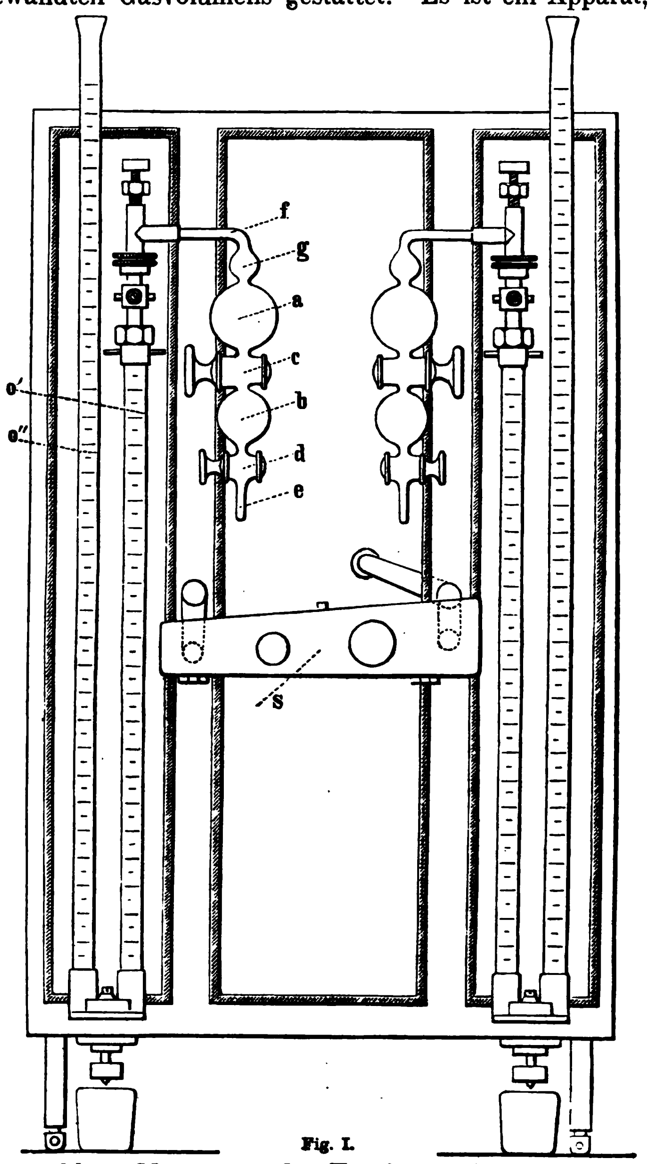



Fig. I.

ebensowohl zu Messungen der Tension, wie zur Ausführung von Absorptionsbestimmungen geeignet ist.

## Apparat.

Der eigentliche Apparat besteht im Wesentlichen aus 2 Theilen, von denen der eine, das Manometer, im Innern eines grossen Wasserbehälters senkrecht befestigt ist. Der andere Theil, ein gläserner Kugelapparat, kann nach Belieben mit dem Manometer in Verbindung gesetzt und wieder von ihm getrennt, er kann für sich mit Flüssigkeit und Gas gefüllt und mittels einer besonderen Vorrichtung unter Wasser geschüttelt werden. Die luftdichte Verbindung beider wird durch metallische und zwar aus massivem Nickelmetall gefertigte Ansätze vermittelt, deren einer auf das obere Ende des einen Manometerschenkels, während der andere an das eine Ende des Kugelapparates angekittet ist.

Kugelapparat (Fig. I). Dieser ist aus einer grösseren (a), etwa 170 cbcm., und einer kleineren (b), etwa 78 cbcm. fassenden Glaskugel zusammengesetzt, welche beide durch einen Hahn (c) mit möglichst weiter (nahe 10 mm. Durchmesser) Bohrung mit einander verbunden sind. Die kleinere Kugel kann ferner durch den Hahn d verschlossen werden, an welchen sich auf der entgegengesetzten Seite das offene, etwa 5 cm. lange Rohr e anfügt.

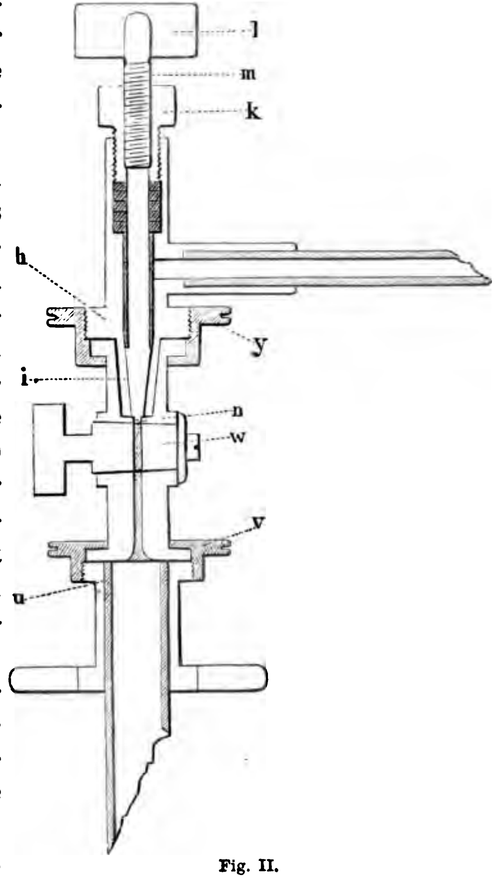



Fig. II.

An die grosse Kugel schliesst sich nach oben das rechtwinklig umgebogene Rohr f an, welches bei g zunächst noch einmal eine kleine kugelförmige Erweiterung trägt. An das offene Ende von f nun ist ein ┤-förmiges Röhrenstück aus Nickelmetall (Fig. II) angekittet, an welchem zunächst ein Schraubenring h, ein conischer Fortsatz i, der Kopf einer eingeschraubten Stopfbüchse k und der Griff l eines Schraubenstiftes m sichtbar ist, der sich im Innern des Metallrohres vor- und rückwärts bewegen lässt und der am andern Ende derart conisch zu- und in das gleichfalls conische Lumen des Fortsatzes i eingeschliffen ist, dass die Mündung des letzteren dadurch vollkommen luftdicht verschlossen werden kann. Wenn dies der Fall, so ragt das Ende des Stiftes etwa noch als ein 1,5 mm. langer Zapfen n aus der Oeffnung von i hervor.

M a n o m e t e r. Das Manometer (Fig. I) besteht aus 2 gläsernen, mit aufgeätzter Millimeterskale versehenen und je 18 mm. weiten Röhren, von denen die eine, o′, etwa 720 mm., die andere, o″, ungefähr 1020 mm. Länge besitzt. Beide sind in 2 kurze (3 cm.) metallene (Nickel) Rohrfortsätze, p′, p″ (Fig. III), eingekittet, welche auf einem soliden Metallstücke aufsitzen, innerhalb dessen die Communication der zwei Manometerschenkel durch eine hinlänglich weite (5 mm.) Bohrung q bewerkstelligt ist.

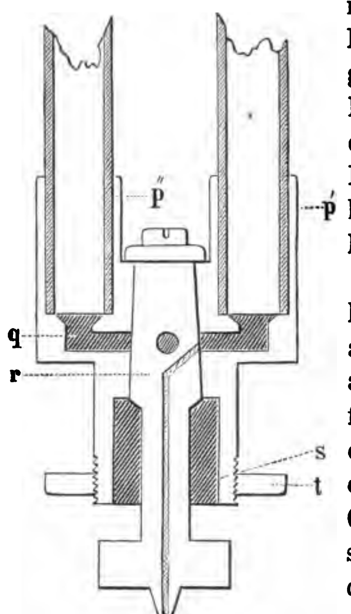


Fig. III.

Um diese Communication beliebig unterbrechen und bald aus dem einen, bald aus dem andern Schenkel Quecksilber abfliessen lassen zu können, ist der metallische Zweiweghahn r eingefügt, der nach unten aus dem Ganzen hervorragt. Das Metallstück ist ferner nach unten zu dem Schraubenringe s verlängert, auf welchen sich eine breit über-

greifende Mutter t aufschrauben lässt. Da das Manometer zum Zwecke seiner sicheren Aufstellung und Befestigung in eine Oeffnung der eisernen Bodenplatte des Wasserständers eingelassen ist, so dient die Schraubenmutter, wenn sie angezogen wird, dazu, das Ganze fest in diese Bodenplatte hineinzupressen. Es gestattet diese Art der Befestigung zugleich eine bequeme Handhabung des Hahnes ausserhalb des Wasserständers (siehe Fig. I), während das Manometer selbst vollständig von Wasser umgeben ist. Damit dasselbe bequem, luftdicht und unter Vermeidung aller schädlichen Räume mit dem Kugelapparate verbunden werden könne, ist an das obere offene Ende des kürzeren Schenkels die Schraubenhülse u (Fig. II) angekittet, deren oberer Rand mit dem Rande des Glases absolut eben geschliffen ist. Auf diese ringförmige Ebene kann nun vermittelst der Schraubenmutter v nach Einschaltung eines äusserst dünnen Kautschukringes ein metallenes Zwischenrohr aufgepresst werden, welches über dem Metallhahne w derartig conisch erweitert und ausgeschliffen ist, dass der conische Fortsatz i des Kugelapparates genau in diese Erweiterung hineinpasst und dass ferner der oben erwähnte Zapfen n auch die kleine Bohrung in der Wandung des Hahnes möglichst vollkommen ausfüllt. Um den Fortsatz i fest in das Verbindungsstück hineinzupressen und darin festzuhalten, dazu dient die Schraubenmutter y.

Wasserständer (Fig. I). Der grosse, auf einem starken eichenen Tische aufgestellte Wasserständer[1]), in welchem sich 2 der oben beschriebenen Manometer mit Kugelapparaten und eine Schüttelvorrichtung befinden, ist aus einer dicken eisernen Bodenplatte mit 4 gusseisernen Füssen von 15 cm. Höhe, einem eisernen Gerippe und aus starken Spiegelglasscheiben zusammengesetzt. Da die Höhe des Ganzen 98, die Breite 58 und die Tiefe 32 cm. beträgt, so vermag der Ständer beinahe 182 Liter Wasser zu fassen. In die beiden

---

1) Derselbe ist in Fig. I so gezeichnet, als wenn seine vordere Wand ganz hinweggenommen wäre.

Breitseiten desselben sind noch in gleichen Abständen von einander zwei vertikale eiserne Zwischenrippen eingeschaltet, ein Mal, um den Widerstand der Glaswände gegen den Druck der Wassermasse zu unterstützen, und zweitens, um Haftpunkte für allerlei Klammern zum Festhalten der Manometer und für die Schüttelvorrichtung zu gewinnen.

Die Schüttelvorrichtung (Fig. I, S. 570) besteht aus einer schmalen, aus 3 dünnen Holzplatten zusammengefügten, nach oben offenen Rinne, deren eine Seite, durch Charniere beweglich, nach aussen umgeklappt, in aufrechter Stellung aber durch einen Haken an der gegenüber stehenden Platte festgehalten werden kann. In dieser Rinne, deren Wände noch ausserdem mit kreisförmigen Ausschnitten für die Kugeln versehen sind, lässt sich der Kugelapparat, nachdem er vom Manometer gelöst worden, sicher einklemmen und mit derselben vermittelst einer Kurbel in raschen Stössen unter dem Wasser hin und her bewegen.

Apparate zur Bereitung, Aufbewahrung und Ueberfüllung bestimmter Gasgemische. Die Gasgemische aus Stickstoff und Sauerstoff[1]) von jedes Mal genau bekannter Zusammensetzung wurden in den gleichen, an Messröhren angeschmolzenen, grossen Glaskugeln hergestellt, die ich schon bei anderer Gelegenheit benutzt und bereits früher[2]) beschrieben habe. Aus diesen Kugeln wurden sie erst in eines der von Ehrenberg[3]) angegebenen, etwas mehr als 1 Liter fassenden Quecksilbergasometer übergefüllt, aus welchem zuletzt die Entnahme des Gases für jeden einzelnen Versuch in folgender Weise stattfand.

---

[1]) Der Stickstoff war aus der Böttger'schen Mischung (1 Theil Kaliumbichromat, 1 Theil Ammoniumnitrat, 1 Theil Natriumnitrit, 3 Theile Wasser), der Sauerstoff direct aus geschmolzenem chlorsauren Kali entwickelt.

[2]) Journ. f. pr. Chemie, Neue Folge, Bd. 30, S. 69 ff.

[3]) Ebendaselbst, Neue Folge, Bd. 32, S. 236, und Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 11, S. 156.

Auf das Gasometer wird mittels Kautschukschlauches ein gläsernes ⊣-Rohr aufgesetzt, in dessen Horizontalschenkel ein gut eingeschliffener Glashahn eingeschaltet ist. Dieser Horizontalschenkel wird mit einer Muencke'schen Wasserstrahlpumpe, das obere Ende des Vertikalstückes aber mit dem hohlen Metallconus des Kugelapparates, und zwar beide Male mittels Kautschuks, in Verbindung gesetzt. War nun schon vorher die kleine Kugel dieses Apparates genau bis an die obere Grenze der Bohrung des mittleren Hahnes (vergl. Fig. I) durch gelindes Saugen mit Blut oder Lösung angefüllt, so wird jetzt, nach Schluss dieses Hahnes, durch Drehung des Schraubenstiftes der Conus geöffnet und die grosse Kugel sammt ⊣-Rohr luftleer gepumpt. Ist dies geschehen, so wird der Hahn des Horizontalschenkels geschlossen, gleichzeitig aber der Gasometerhahn geöffnet, etwas von dem Gasgemische in den soeben evacuirten Raum hineingelassen und dieser sofort wieder ausgepumpt.

Erst nach mehrmaliger Wiederholung dieses Verfahrens, nachdem man sicher sein durfte, alle atmosphärische Luft gründlich entfernt zu haben, wurde die Kugel bleibend mit dem Gasgemische gefüllt, der Conus durch den Schraubenstift geschlossen und der ganze Kugelapparat von dem ⊣-Rohre des Gasometers losgelöst.

Es möge besonders bemerkt werden, dass der Kugelapparat während aller dieser Proceduren bis über den mittleren Hahn in Wasser von der Versuchstemperatur stand und dass alle aus Kautschuk bestehenden Verbindungsstücke an ihren Enden mit Klebwachs überzogen und so gewissermassen noch mit dem Glase verschmolzen waren.

## Ausführung eines eigentlichen Versuches.

Bei jedem einzelnen Versuche verfährt man folgendermassen. Zuerst beschickt man in der oben beschriebenen Weise die einzelnen Abtheilungen des Kugelapparates, die eine mit Blut oder Krystalllösung, die andere mit dem Gasgemische, senkt ihn alsdann rasch in den ziemlich bis an den Rand mit

Wasser von der Versuchstemperatur gefüllten Wasserständer ein und verbindet ihn, wie vorhin angegeben, mit dem Manometer, aus welchem schon vorher alle Luft durch Quecksilber verdrängt ist. Hierauf zieht man durch eine bestimmte Anzahl von Umdrehungen seines Griffes den Schraubenstift aus dem metallenen Conus, öffnet den Metallhahn, der sich unmittelbar unter dem letzteren befindet, und stellt so die Communication her zwischen dem Gasgemische des Apparates und dem Quecksilber des Manometers. In der Regel ist es nothwendig, noch etwas Quecksilber ausfliessen zu lassen, damit das Gas noch einen messbaren Raum im Manometer ausfülle. Man wartet hierauf noch einige Zeit, bis der Stand des Quecksilbers in letzterem sich nicht mehr ändert, und vollführt dann die zur Messung und Reduction des vorhandenen Gasvolumens nöthigen Beobachtungen.

Die erforderlichen Daten sind:

1. Temperatur des Wassers im Ständer . . . . . . . . . t
2. Stand des Quecksilbers in den beiden Schenkeln des Manometers, gemessen an der Skale des Staudinger'schen Kathetometers . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . l, r
3. Quecksilberstand in dem mit dem Kugelapparate direct communicirenden Schenkel, gemessen an der auf diesen selbst aufgeätzten Skale . . . . . . . . . . . . . . . . . m
4. Barometerstand . . . . . . . . . . . . . . . . . . b'τ
5. Temperatur des Barometers . . . . . . . . . . . . . τ

Sind diese Beobachtungen ausgeführt, so schliesst man erst Conus, dann Hahn, trennt den Kugelapparat vom Manometer und befestigt ihn in der Schüttelvorrichtung. Jetzt öffnet man den Hahn zwischen den beiden Kugeln, lässt Blut oder Lösung zum Gasgemische treten und schüttelt hierauf das Ganze mehrere Minuten auf das Kräftigste. Dann bringt man den Kugelapparat abermals mit dem Manometer in Verbindung, öffnet die Verschlüsse und beobachtet die eingetretene Aenderung im Stande des Quecksilbers. Man wiederholt das Schütteln so lange, bis dieser sich nicht mehr verändert. In der Regel ist der Stillstand schon nach einigen Minuten erreicht und nun macht man von Neuem die nöthigen Ablesungen. — Die Temperatur des Wassers pflegt im geheizten

Zimmer während aller einzelnen Operationen nur wenig zu sinken; der Gebrauch der Schüttelvorrichtung aber sorgt für genügende Ausgleichung derselben in den verschiedenen Schichten.

Am Schlusse eines jeden derartigen Versuches musste etwas von dem im Apparate enthaltenen Gase herausgeholt und analysirt werden. Am besten geschieht dies in folgender Weise: Zunächst lässt man, während der Kugelapparat noch mit dem Manometer in Verbindung steht, aus letzterem so viel Quecksilber ausfliessen, dass ein grosser Theil des in der Kugel enthaltenen Gases in den unmittelbar anschliessenden Manometerschenkel nachströmen muss; dann schliesst man den Metallhahn w, entfernt den Kugelapparat, füllt den conischen Hohlraum über dem Hahnen mit Quecksilber und befestigt darin vermittelst eines Kautschukstopfens ein capillares Glasrohr, dessen hakenförmig gebogenes Ende oberhalb des Wasserständers, aber unter dem Quecksilberspiegel einer kleinen Quecksilberwanne mündet, die von einem über den Ständer gelegten Brette getragen wird. Endlich füllt man den andern Manometerschenkel mit Quecksilber auf. Das weitere zum Auffangen einer für die Analyse hinreichenden Gasprobe nöthige Verfahren bedarf nunmehr keiner Beschreibung.

Ein Beispiel wird jetzt die Verwerthung der Versuchsdaten am leichtesten klar machen. Es sei in Gestalt einer Tabelle gegeben, in welcher neben den directen Beobachtungsdaten auch die aus Tafeln abzulesenden, sowie die reducirten Werthe, endlich solche mit aufgeführt sind, die aus den Resultaten der Gasanalyse berechnet wurden. Ausser den bereits angegebenen kommen somit darin noch folgende weitere Bezeichnungen vor: $b'_0$ heisse der Barometerstand, reducirt auf $0^\circ$ Temperatur; $b''_t$ heisse die abgelesene Differenz, $l - r$, der beiden Quecksilbersäulen im Manometer[1]), ausgedrückt in mm.

[1]) Diese Differenz hat ein negatives Vorzeichen, wenn der Stand des Quecksilbers in dem unmittelbar mit dem Kugelapparate communicirenden Manometerschenkel (im vorliegenden Falle mit l bezeichnet) höher ist als im andern Schenkel.

Quecksilber, $b''_0$ dieselbe reducirt auf 0°; $b'''_t$ die Tension des Wasserdampfes bei der Versuchstemperatur, p der Druck, unter welchem das Gasgemisch steht, $p_0$ der Partiardruck des Sauerstoffs, $V_{tp}$ das beobachtete und nach der Calibrirtabelle corrigirte Gasvolumen in cbcm., $V_{0b}$ dasselbe Volumen reducirt auf 0° und 760 mm. Druck.

Versuch mit einer etwa 5 procentigen Lösung frisch dargestellter Ochsenblutkrystalle und einem Gasgemische von 6,94% Sauerstoff:

| Vor dem Schütteln. | Nach dem Schütteln. |
|---|---|
| t = 34,9° | t = 34,1° |
| $b'\tau$ = 729,2 mm. | $b'\tau$ = 729,2 mm. |
| $\tau$ = 1,0° | $\tau$ = 1,0° |
| $b'_0$ = 729,1 mm. | $b'_0$ = 729,1 mm. |
| l = 891,9 » | l = 891,15 » |
| r = 891,6 » | r = 892,05 » |
| $b''_t$ = —0,3 » | $b''_t$ = 0,9 » |
| $b''_0$ = —0,3 » | $b''_0$ = 0.9 » |
| m = 600,0 » | m = 599,3 » |
| $b'''_t$ = 41,595 » | $b'''_t$ = 39,786 » |
| p = 687,2 » | p = 690,19 » |
| $p_0$ = 47,69 » | $p_0$ = 52,45 » |
| $V_{tp}$ = 197,09 cbcm. | $V_{tp}$ = 197,21 cbcm. |
| $V_{0b}$ = 158,03 » | $V_{0b}$ = 159,23 » |

Die Zusammensetzung der Gesammtmenge des vorhandenen Gases war laut Analyse:

| Vor dem Schütteln. | Nach dem Schütteln. |
|---|---|
| $O_2$ = 10,97 cbcm. | $O_2$ = 12,10 cbcm. |
| $N_2$ = 147,06 » | $N_2$ = 147,13 » |
| 158,03 cbcm. | 159,23 cbcm. |

---

Ehe ich die Versuche mit Lösungen reinen Oxyhämoglobins begann, stellte ich eine Reihe solcher mit frischem

Rindsblute an. Dieselben sollten mehr nur zur vorläufigen Orientirung dienen, weniger zur genauen Feststellung der gesuchten Grenze. Das Blut wurde jedes Mal frisch aus dem Schlachthause bezogen, war defibrinirt und wurde in der Regel einige Stunden vor dem Versuche nochmals tüchtig mit Luft geschüttelt. Unmittelbar vor dem Gebrauche wurde es langsam im Wasserbade auf die Temperatur erwärmt, bei welcher es später mit dem Gasgemische geschüttelt werden musste.

Um gleichzeitig eine genauere Vorstellung von der Grösse des Einflusses der Temperatur auf die Grösse der Dissociation zu gewinnen, wurden mit jedem Gasgemische 2 verschiedene Versuche an 2 verschiedenen Portionen des gleichen Blutes ausgeführt, der eine bei 20°, der andere bei 35°.

Ich gebe die Resultate dieser Versuche in folgenden 2 Tabellen übersichtlich zusammengestellt. In der ersten bedeuten $p_o$ und $p_o'$ die Partiardrücke des Sauerstoffs vor und nach dem Schütteln in Millimetern Quecksilber; $p_o' - p_o$ giebt die Grösse der Differenz, bezw. des Druckzuwachses.

| Nummer des Doppelversuchs. | 20° | | | 35° | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $p_o$ | $p_o'$ | $p_o' - p_o$ | $p_o$ | $p_o'$ | $p_o' - p_o$ |
| 1. | 28,81 | 28,24 | — 0,57 | 28,69 | 35,16 | 6,47 |
| 2. | 42,17 | 43,15 | + 0,98 | 42,38 | 46,51 | 4,13 |
| 3. | 46,27 | 46,63 | 0,36 | 46,31 | 50,73 | 4,42 |
| 4. | —[1] | — | — | 53,98 | 55,75 | 1,77 |
| 5. | 54,77 | 56,26 | 1,49 | 54,73 | 57,49 | 2,76 |

Die nun folgende 2. Tabelle giebt die im ganzen Gasraume je am Anfange und am Ende eines Versuches vorhandenen Sauerstoffmengen in cbcm., reducirt auf 0° und 760 mm. Druck, wie sie aus den jedesmaligen Versuchsdaten und den Ergebnissen der Gasanalyse berechnet sind. v und v′ bedeuten die Sauerstoffvolumina vor und nach dem Schütteln.

---

[1]) Dieser Versuch ging leider verloren.

| Nummer des Doppelversuchs. | 20° | | | 35° | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | v | v′ | v′ — v | v | v′ | v′ — v |
| 1. | 7,62 | 7,49 | — 0,13 | 6,58 | 8,17 | 1,59 |
| 2. | 10,04 | 10,30 | + 0,26 | 9,35 | 10,72 | 1,37 |
| 3. | 11,03 | 11,16 | 0,13 | 10,51 | 11,71 | 1,20 |
| 4. | — | — | — | 12,43 | 13,20 | 0,77 |
| 5. | 14,06 | 14,51 | 0,45 | 12,45 | 13,23 | 0,78 |

Der Einfluss der Temperatur auf die Grösse der Dissociation ist hiernach deutlich genug. Allein, um die Resultate richtiger zu beurtheilen, hat man sich daran zu erinnern, dass im Blute ausser dem in den rothen Körperchen enthaltenen Sauerstoffe auch noch ein zweiter Antheil, als in wässeriger Lösung vorhanden, anzunehmen ist, und dies um so mehr, wenn das Blut soeben mit atmosphärischer Luft geschüttelt wurde. Ja es ist nicht unwahrscheinlich, dass das Blut unmittelbar nach recht heftigem Schütteln mit Luft eine Zeit lang sogar mehr davon enthält, als nach dem Absorptionsgesetze zu erwarten ist, weil das Blut, wie sein eigenthümliches Schäumen zeigt, eine zähe Flüssigkeit ist und leicht mit Luft eine Art von — allerdings nur für kurze Zeit beständiger — gasiger Emulsion bildet. Das Sättigen des Blutes mit Sauerstoff durch Schütteln mit Luft geschah deshalb in allen Fällen einige Stunden vor dem eigentlichen Versuche. Die Temperatur betrug dabei etwa 10°. Nun ist eben die Frage: Wie viel cbcm. Sauerstoff werden von 78 cbcm.[1]) Wasser bei einer Temperatur von 10° und einem Partiardruck von 154 mm. (mittlerer Barometerstand von Tübingen = 735 mm.) absorbirt? wie viel ferner bei einer Temperatur von 20° und den Drücken 40, 45, 55, 60 mm., und wie viel bei einer Temperatur von 35° und je den gleichen Partiardrücken? Hierüber giebt die folgende kleine Tabelle Aufschluss, die nach der Gleichung

$$v = \frac{\alpha_t p_0 V}{760}$$

berechnet wurde.

[1]) Siehe Beschreibung des Kugelapparates S. 571.

In dieser Gleichung bedeutet, wie gewöhnlich, $\alpha_t$ den Absorptionscoefficienten für die betreffende Temperatur, $p_0$ den Partiardruck, V das Volumen des Wassers. Der Absorptionscoefficient $\alpha$ des Sauerstoffs für Wasser für die Temperatur 35° ist = 0,02546 angenommen. Dieser Werth wurde schon früher von mir aus eigenen Versuchen[1]) berechnet.

| | V | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| t | 40 mm. | 45 mm. | 50 mm. | 55 mm. | 60 mm. | 154 mm. |
| 10° | — | — | — | — | — | 0,5137 |
| 20° | 0,1165 | 0,1311 | 0,1456 | 0,1602 | 0,1748 | — |
| 35° | 0,1045 | 0,1176 | 0,1307 | 0,1437 | 0,1568 | — |

Die Differenz zwischen der Zahl 0,51 und den einzelnen in den beiden untersten Horizontalreihen aufgeführten Zahlenwerthen schwankt für die vorletzte Horizontalreihe zwischen 0,34 und 0,40 und für die unterste zwischen 0,36 und 0,41 cbcm. Nach der vorletzten Tabelle nun bleibt die Sauerstoffabgabe in den bei 20° ausgeführten Schüttelversuchen im Allgemeinen hinter diesen Werthen zurück, während sie umgekehrt in den Versuchen mit höherer Temperatur diese Werthe um das 2—4fache übertrifft. Jedenfalls stellen somit die bei niedriger Temperatur gefundenen Pluswerthe ungefähr nur die Sauerstoffmengen dar, die nach der letzten Tabelle als einfach absorbirte entweichen mussten; und wenn dies der Fall, so ist in der That so gut wie bewiesen, dass unter allen oben angewandten Partiardrücken (29 mm. — 56 mm.) das Oxyhämoglobin des Blutes bei 20° überhaupt sich schon gar nicht mehr zersetzt, wohl aber noch sehr merklich bei einer Temperatur von 35°.

Um nun Gewissheit über die gesuchte Druckgrenze zu erhalten, habe ich die weiteren Versuche, welche hierzu nöthig waren, nur noch bei der letzteren Temperatur ausgeführt. Auch benutzte ich dazu zunächst frisches, der Cruralarterie des lebenden Thieres entnommenes Hundeblut, welches nach

[1] Wiedem. Ann., Bd. 1, S. 634.

dem Defibriniren sogleich wieder auf 35° erwärmt worden war. Erst zuletzt verwandte ich Lösungen frisch dargestellter Ochsenblutkrystalle in $^1/_{10}$procentiger Lauge von kohlensaurem Natron.

Folgendes sind die Ergebnisse:

Versuche mit Hundeblut.

| Versuchs-Nummer. | t | t′ | $p_o$ | $p_o'$ | $p_o' - p_o$ | v | v′ | v′ — v |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 34,0° | 33,5° | 62,04 | 61,67 | — 0,37 | 14,30 | 14,41 | 0,11 |
| 2. | 34,8° | 34,3° | 61,47 | 62,11 | + 0,64 | 14,20 | 14,44 | 0,24 |
| 3. | 33,9° | 33,1° | 78,42 | 77.85 | — 0,57 | 18,10 | 18,09 | — 0,01 |
| 4. | 34,6° | 33,9° | 78,28 | 78,09 | — 0,19 | 18,13 | 18,21 | + 0,08 |

In dieser Tabelle bedeuten wieder t, $p_o$, v Temperatur, Sauerstoffdruck und Sauerstoffvolumen vor, t′, $p_o'$, v′ dieselben Grössen nach dem Schütteln.

Schon nach diesen Versuchen zu schliessen, dürfte für eine Temperatur von 34—35° bei einem Sauerstoffdrucke von 62—63 mm., d. h. also bei einem Atmosphärendrucke von circa 300 mm., die Grenze wohl erreicht sein, von wo ab aufwärts die Dissociation des Oxyhämoglobins ein Ende hat. Bei 78 mm. Sauerstoffdruck, d. h. bei etwa 370 mm. Atmosphärendruck, ist diese Grenze offenbar schon entschieden überschritten.

Zu dem gleichen Schlusse führen die Versuche mit Lösungen frisch dargestellter Ochsenblutkrystalle.

Zur Bereitung dieser Lösung wurden nur Krystalle verwandt, die sich zum ersten Male ausgeschieden hatten, die dann mittels der Centrifuge ausgeschleudert und endlich durch Aufbringen auf sehr poröse Thonplatten bei 0° Temperatur möglichst von Flüssigkeit, namentlich von Alkohol, befreit worden waren. Als Lösungsmittel diente eine ausgekochte $^1/_{10}$procentige Lauge von kohlensaurem Natron; die Concentration betrug durchschnittlich 6—8 %, in Versuch 6 der nächsten Tabelle sogar über 8 %. — Wie beim Blute, begann

auch hier die Untersuchung mit niedrigen Sauerstoffdrücken; dagegen geschah sie immer bei annähernd der gleichen Temperatur. In folgender Tabelle, welche die Resultate zusammenfasst, haben die einzelnen Zeichen die gleiche Bedeutung wie oben.

Versuche mit Lösungen von Blutkrystallen.

| Versuchs-Nummer. | t | t′ | po | po′ | po′ — po | v | v′ | v′ — v |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 34,3° | 33,8° | 38,04 | 42,42 | 4,38 | 8,69 | 9,73 | 1,04 |
| 2. | 34,3° | 33,7° | 47,84 | 51,99 | 4,15 | 11,04 | 12,05 | 1,01 |
| 3. | 34,9° | 34,1° | 47,69 | 52,45 | 4,76 | 10,97 | 12,10 | 1,13 |
| 4. | 34,7° | 34,0° | 52,36 | 57,54 | 5,18 | 12,27 | 13,54 | 1,27 |
| 5. | 35,0° | 34,1° | 57,35 | 58,36 | 1,01 | 13,42 | 13,70 | 0,28 |
| 6. | 35,0° | 34,3° | 64,90 | 64,26 | — 0,64 | 15,05 | 14,96 | — 0,09 |
| 7. | 34,8° | 34,0° | 64,65 | 63,48 | — 1,17 | 14,82 | 14,59 | — 0,23 |

Somit findet also auch in Lösungen reiner Oxyhämoglobinkrystalle von einem Gehalte von etwas über 8 % bei einer Temperatur von 34—35° oberhalb eines Sauerstoffdruckes von 64 mm. (= einem Luftdrucke von 305 mm.) keine Dissociation mehr statt; und so stimmt denn in der That dieses Ergebniss mit der Angabe von Paul Bert[1]) überein, wonach die Curve, welche die Abhängigkeit des Sauerstoffgehaltes körperwarmen Blutes vom Drucke versinnlichen soll, erst von einem Luftdrucke von etwa 300 mm. nach abwärts an rapid zu sinken beginnt.

Natürlich wird man erwarten dürfen, dass der Zerfall unserer Verbindung im Blute bei Fieberwärme schon unter einem noch höheren Drucke beginnen wird. Ich habe es vorerst unterlassen, meine Versuche bei Temperaturen von 38—40° zu wiederholen, weil ich dabei den Glashähnen meines Apparates nicht mehr ganz vertraute; indessen hoffe ich diese Schwierigkeit überwinden und bald auch über Ver-

1) A. a. O., S. 691.

suche berichten zu können, die sowohl bei jenen höheren Temperaturen, wie mit Lösungen von noch grösserer Concentration angestellt wurden.

Jedenfalls dürfte so viel feststehen, dass eine Herabsetzung des Druckes unserer Atmosphäre unter 300 mm. Quecksilber für den Warmblüter[1]) schon um einer physikalisch-chemischen Ursache willen gefährlich wird, und dass folglich auch ein länger dauernder Aufenthalt in Höhen von über 5500 Metern, ganz abgesehen von anderen schädlichen Einflüssen, die dort wirken, auch bereits aus diesem Grunde für den Menschen unmöglich ist.

Etwaige Vorstellungen, die man über den ganzen merkwürdigen Verlauf der in Rede stehenden Dissociation als einen gesetzmässigen Vorgang, die man namentlich über Beziehungen zwischen Grösse der Dissociation, Concentration der Lösung, Partiardruck des darüber befindlichen und Menge des in der Flüssigkeit absorbirt enthaltenen Sauerstoffs, hegen kann, sollen später an einem anderen Orte besprochen werden.

Tübingen, im April 1888.

---

[1]) Ob die hier ausgesprochene Behauptung auch für alle Vögel — man denke z. B. an den Condor! — zutreffend ist, wäre freilich erst noch durch eine besondere Untersuchung zu erweisen.

# Beiträge zur Kenntniss des Lecithins.

Von

**Eugen Gilson** aus Bette St.-Pierre (Belgien).

(Der Redaction zugegangen am 30. Mai 1888.)

Das Lecithin, dessen Molekül Fettsäure, Phosphorsäure und Neurin enthält, ist einer der interessantesten in's Gebiet der physiologischen Chemie gehörenden Körper; ohne Zweifel kommt ihm eine der wichtigsten Rollen in der Chemie des Lebens zu, aber trotz der grossen ihm zukommenden physiologischen Bedeutung ist seine molekulare Constitution noch durchaus nicht nach allen Richtungen sicher festgestellt, was zweifelsohne den besonderen Schwierigkeiten der Untersuchung zuzuschreiben ist. Zur Zeit haben zwei Ansichten Geltung, die von Diakonow[1]) und die von Strecker[2]).

Diakonow behauptet, dass das Lecithin eine salzartige Verbindung sei und dass darin die Distearinglycerinphosphorsäure mit dem Neurin, welches die Rolle der Base vertritt, verbunden sei. Er kommt zu diesem Schluss, weil erstens das Lecithin durch Behandlung mit Barytwasser zersetzt und in freies Neurin, glycerinphosphorsaures und stearinsaures Barium gespalten würde; zweitens beim Behandeln einer ätherischen Lecithinlösung mit verdünnter Schwefelsäure in wässeriger Lösung Neurinsulfat, in ätherischer dagegen Di-

1) Centralblatt für d. medic. Wissenschaften, 1868.
2) Annal. d. Chem. u. Pharm., 1868.

stearinglycerinphosphorsäure, deren Kalisalz krystallisirt und unlöslich in Alkohol ist, erhalten würden.

Nach Strecker ist das Lecithin im Gegentheil als eine ätherartige Verbindung anzusehen; das Neurin ist mit der Distearinglycerinphosphorsäure durch das Sauerstoffatom der Hydroxylgruppe verbunden. Strecker folgert dies aus der Reaction mit Platinchlorid, das, zu einer alkoholischen Lecithinlösung hinzugefügt, einen in Alkohol unlöslichen, in Aether und Chloroform leicht löslichen Niederschlag, welcher seiner Ansicht nach 2 Moleküle HCl Lecithin und 1 Molekül Platinchlorid enthält, hervorruft; das Lecithin verhält sich also wie eine Base. Wäre dasselbe eine salzartige Verbindung, so müsste man bei dieser Reaction Neurinplatinchlorid, unlöslich in Alkohol, Aether und Chloroform, erhalten. Die folgenden Formeln mögen die Ansichten beider Forscher veranschaulichen:

Nach Diakonow:

$$C_3H_5\left\{\begin{array}{l} O.CO\,C_{17}H_{35} \\ O.CO\,C_{17}H_{35} \\ O \end{array}\right. \qquad PO\left\{\begin{array}{l} OH \\ O.N\left\{\begin{array}{l}(CH_3)_3 \\ C_2H_4.OH\end{array}\right. \end{array}\right.$$

Nach Strecker:

$$C_3H_5\left\{\begin{array}{l} O.CO\,C_{17}H_{35} \\ O.CO\,C_{17}H_{34} \\ O \end{array}\right. \qquad PO\left\{\begin{array}{l} OH \\ \left.\begin{array}{l} O.C_2H_4 \\ (CH_3)_3 \end{array}\right\}N(OH). \end{array}\right.$$

Es werfen sich sonach die Fragen auf: Ist das Lecithin als salzartige Verbindung aufzufassen, spielt das Neurin darin die Rolle einer Base, wie Diakonow meinte, oder aber ist es eine ätherartige Verbindung, vertritt das Neurin in derselben die Stelle des Alkohols, wie Strecker annahm?

Neuerdings hat Hundeshagen nachzuweisen versucht, dass das Lecithin keine salzartige Verbindung sei; er hat das Neurinsalz der Distearinglycerinphosphorsäure synthetisch dargestellt und gefunden, dass dieser Körper zwar dieselbe procentische Zusammensetzung, aber keineswegs die Eigenschaften des Lecithins besitzt; also nicht als solches anzusehen ist. Es war daher von Interesse, eine andere Synthese des Lecithins durch Einwirkenlassen von Aethylenoxyd und Trimethyl-

amin auf die durch Zersetzung des Lecithins zu erhaltende Distearinglycerinphosphorsäure zu versuchen. Es handelte sich dieserhalb zunächst darum, letztere Säure darzustellen. Zu dem Zwecke versuchte ich dieselbe durch Einwirkung verdünnter Schwefelsäure auf eine ätherische Lecithinlösung zu erhalten. Da bei diesem Verfahren indessen nur sehr geringe Mengen Distearinglycerinphosphorsäure erhalten wurden, dachte ich dieselbe durch Zersetzung des Lecithins mittelst verdünnter Alkalien zu bekommen; allein ich machte die Erfahrung, dass so überhaupt nicht einmal Spuren der gewünschten Säure zu erlangen sind. Aus diesen Gründen musste ich von der in Aussicht genommenen Synthese abstehen.

Die folgenden Untersuchungen, welche sich auf die Einwirkung der Schwefelsäure und der Alkalien auf das Lecithin erstrecken, sollen den Beweis dafür liefern, dass das Lecithin keine salzartige Verbindung ist. Bevor ich jedoch das Resultat meiner Untersuchungen mittheile, will ich über die zur Darstellung des Lecithins eingeschlagenen Methoden berichten.

## Darstellung des Lecithins.

Man schüttelt Eigelb gehörig mit Aether, lässt das Gemenge einige Stunden lang stehen und sich absetzen. Die ätherische stark gelb gefärbte Lösung giesst man alsdann ab. Der in Aether nicht gelöste Rückstand wird wiederum mit Aether behandelt und diese Manipulation so lange wiederholt, bis der Aether nur noch sehr schwach gelblich gefärbt ist. Der so erhaltene Rückstand wird mit absolutem Alkohol bei 50—60° digerirt, nun schnell filtrirt und die filtrirte Flüssigkeit möglichst rasch zur Syrupconsistenz eingedampft. Der eingedampfte Rückstand wird mit Aether aufgenommen, decantirt, filtrirt und der Aether von dem auf dem Filter gebliebenen Rückstande abgedampft. Der letztere wird wieder in möglichst wenig absolutem Alkohol gelöst; man filtrirt und bringt die alkoholische Flüssigkeit in eine Kältemischung (— 5 bis — 15°). Das Lecithin setzt sich nach einiger Zeit am Boden des Gefässes ab; es wird durch Fil-

tration von der Flüssigkeit getrennt und unter der Luftpumpe getrocknet.

Dies ist mit geringer Abweichung das von Diakonow angewandte Verfahren.

Da aber das Lecithin in Aether löslich ist, so ist es begreiflich, dass man bei Befolgung dieser Methode beträchtlichen Substanzverlust erleidet; zumal, wenn man berücksichtigt, dass, um eine farblose ätherische Lösung zu erhalten (ganz farblos erhält man sie nie), die Eidotter mit sehr grossen Aethermassen behandelt werden müssen. Um diese Verluste und die Umständlichkeit des Verfahrens zu vermeiden, habe ich eine Darstellungsweise angewandt, welche es gestattet, eine grosse Menge Lecithin aus dem Eindampfungsrückstande der ätherischen Lösung zu extrahiren, und daher viel vortheilhafter ist.

Der ätherische Auszug der Eidotter wird durch Destillation völlig vom Aether getrennt, darauf in Petroläther gelöst und nun filtrirt. Das in einen Scheidetrichter gebrachte Filtrat wird mit 75 % Alkohol gehörig geschüttelt, worauf man absetzen lässt. Nachdem die Flüssigkeiten sich völlig getrennt haben, zieht man den alkoholischen Theil ab. Die petrolätherische Lösung wird zu wiederholten Malen mit 75 % Alkohol behandelt; die alkoholischen Auszüge werden vereinigt und, falls die so erhaltene Flüssigkeitsmenge nicht ganz klar ist, einige Zeit stehen gelassen. Man trennt alsdann die alkoholische Lösung von etwa noch anwesendem Petroläther und filtrirt; befreit sie durch Destillation vom Rest des letzteren und lässt sie mehrere Tage lang an einem kühlen Orte stehen. Am Boden des Gefässes scheidet sich alsdann ein Niederschlag aus, welcher neben wenig Lecithin fremde Substanzen, besonders Cholesterin, enthält. Durch Decantiren wird die alkoholische Lösung von diesen getrennt, dann filtrirt und durch Kochen mit Knochenkohle entfärbt. Nun wird möglichst schnell bei 50—60° eingedampft, bis Syrupconsistenz erreicht ist. Der syrupartige Eindampfungsrückstand wird mit Aether aufgenommen; man decantirt, filtrirt und dampft schliesslich wiederum ein. Das so erhaltene Lecithin

ist beinahe ganz rein; es enthält indessen noch Spuren von Cholesterin. Um es völlig zu reinigen, kann man es in möglichst wenig absolutem Alkohol lösen und in der Kälte bei — 5 bis 15° ausfallen lassen.

## Gang der Untersuchung der Zersetzungsproducte des Lecithins.

Durch Einwirkung verdünnter Schwefelsäure auf das Lecithin kann dasselbe in Neurin, Phosphorsäure, Glycerinphosphorsäure, Distearinglycerinphosphorsäure und Fettsäuren zerlegt werden. Im Folgenden werde ich den Gang der Untersuchung dieser Producte, welchen ich eingeschlagen habe, mittheilen. Eine in einen Scheidetrichter eingebrachte ätherische Lecithinlösung wird längere Zeit mit verdünnter Schwefelsäure gehörig geschüttelt. Nach kurzem Stehenlassen haben sich die Flüssigkeiten gesondert. Es werden zwei Lösungen erhalten:

1. eine wässrige saure Lösung A,
2. eine ätherische Lösung B.

### Untersuchung von A.

Zu der sauren Lösung A wird Barytwasser bis zur alkalischen Reaction hinzugefügt, der Ueberschuss des Baryts durch Kohlensäure entfernt und, nach kurzem Erwärmen auf dem Wasserbade, filtrirt.

Man erhält so:

1. eine neutrale Flüssigkeit a,
2. einen barythaltigen Niederschlag b.

Die neutrale Flüssigkeit a wird auf dem Wasserbade fast bis zur Trockne eingedampft und dann mit absolutem Alkohol extrahirt. Zu der abfiltrirten alkoholischen Flüssigkeit wird eine alkoholische Platinchloridlösung hinzugesetzt; man erhält sofort einen reichlichen Niederschlag von Neurinplatinchlorid, falls diese Base in der alkoholischen Lösung vorhanden ist. Es ist unnöthig, Salzsäure hinzuzufügen, da das Platinchlorid stets genug davon enthält.

Der in Alkohol unlösliche Theil des aus a erhaltenen Eindampfungsrückstandes wird wieder in Wasser gelöst, filtrirt, eingedampft und in einer Platinschaale mit Soda und Salpeter geglüht. Der Glührückstand wird in wenig Wasser gelöst, mit Salpetersäure versetzt und zu der wiederum filtrirten Flüssigkeit ein Ueberschuss von molybdänsaurer Ammonlösung hinzugefügt. Falls Phosphat vorhanden, stellt sich nach Erwärmen auf etwa 50—60° der characteristische gelbe Niederschlag ein. Hat man auf diese Weise Phosphorsäure gefunden, so ist damit nachgewiesen, dass die wässrige saure Lösung A Glycerinphosphorsäure enthält, deren Bariumsalz, löslich in Wasser, unlöslich in absolutem Alkohol, durch Schmelzen mit Soda und Salpeter in Alkaliphosphat übergeführt worden ist.

Der Barytniederschlag b wird, nach gehörigem Auswaschen, mit verdünnter Salpetersäure behandelt, filtrirt und wieder ausgewaschen. Die filtrirte Flüssigkeit wird auf dem Wasserbade bis auf ein sehr kleines Volumen eingeengt; darauf in die Kälte gebracht, in Folge dessen der grösste Theil des Baryumnitrats auskrystallisirt; und nun filtrirt. Nachdem mit wenig kaltem Wasser nachgewaschen worden ist, versetzt man das Filtrat mit Molybdänsäurelösung. Erhält man wiederum den characteristischen gelben Niederschlag, so ist damit der Beweis erbracht, dass durch Einwirken verdünnter Schwefelsäure auf das Lecithin sich freie Phosphorsäure gebildet hatte. Diese Phosphorsäure, anfänglich gelöst in der schwach sauren Flüssigkeit A, ist als unlösliches Barytsalz aus A erhalten worden durch Zusatz von überschüssigem Barytwasser. Der entstandene phosphorsaure Baryt ist durch die Salpetersäure wieder zersetzt worden.

### Untersuchung von B.

Die ätherische Lösung B wird durch Destillation vom Aether befreit; der Rückstand mit Barytwasser versetzt und eine Stunde lang erwärmt. Der überschüssige Baryt wird durch Kohlensäure entfernt; es wird filtrirt und ausgewaschen.

Man erhält so:

1. eine neutrale wässrige Flüssigkeit a′,
2. einen Barytniederschlag b′.

Die wässrige Flüssigkeit a′ wird auf dem Wasserbade fast bis zur Trockne eingedampft und dann mit Alkohol ausgezogen. Diese alkoholische Lösung wird nach dem Filtriren mit alkoholischem Platinchlorid versetzt, um so etwa vorhandenes Neurin nachzuweisen. Der in Alkohol unlösliche Eindampfungsrückstand der Flüssigkeit a′ wird wieder mit Wasser aufgenommen, und weiter behandelt, wie es oben für a angegeben. Der gelbe Niederschlag, den man so eventuell erhält, würde ein Beweis dafür sein, dass B entweder noch nicht zersetztes Lecithin einschloss oder aber Distearinglycerinphosphorsäure.

Der Barytniederschlag b′ wird mit verdünnter Salpetersäure versetzt, auf ein Filter gebracht, gewaschen und weiter behandelt, wie oben angegeben. Man weist so etwa vorhandene freie Phosphorsäure nach.

Der Theil des Niederschlages b′, welcher sich in der verdünnten Salpetersäure nicht gelöst hat, wird tüchtig mit destillirtem Wasser gewaschen und dann getrocknet. Durch Schütteln mit Aether, Decantiren, Filtriren und schliessliches Eindampfen werden vorhandene freie Fettsäuren erhalten.

### Einwirkung der Schwefelsäure.

Eine in einen Scheidetrichter gebrachte ätherische Lecithinlösung wird gehörig mit Schwefelsäure geschüttelt (die Zeit, während welcher ich die Säure auf diese Weise einwirken liess, variirte ebenso wie der Grad der Concentration bei jeder Operation). Man lässt darauf die Flüssigkeiten sich absetzen und, wenn die Trennung in zwei Schichten sich vollzogen hat, den unteren sauren Theil ablaufen, worin man das Neurin, die Glycerinphosphorsäure und Phosphorsäure aufzusuchen hat.

Die ätherische Lösung behandelt man von Neuem mit Schwefelsäure von derselben Concentration und setzt dies Verfahren fort, bis kein Neurin mehr gebunden wird. Alsdann wird die ätherische Lösung, wie oben für B angegeben,

behandelt; man sucht darin nach Neurin, Phosphorsäure, Glycerinphosphorsäure und Fettsäuren.

Das Ausfällen des Neurins durch Platinchlorid ist am zweckmässigsten in gleich grossen Gefässen vorzunehmen, da es so ermöglicht wird, eine volumetrische Schätzung der jedes Mal erhaltenen Menge vorzunehmen. An eine genaue Bestimmung mittelst Wägung ist nicht zu denken, weil dazu die erhaltenen Mengen meistens viel zu gering sind. Dasselbe gilt auch bezüglich des durch Molybdänsäurelösung erhaltenen gelben Niederschlages. Anfangs wandte ich eine sehr verdünnte Schwefelsäure (zu $^1/_2$ $^0/_0$) an, da ich befürchtete, bei Anwendung stärkerer Säure das Lecithin vollständig zu zerstören; allein ich überzeugte mich bald, dass eine $^1/_2$procentige Säure auf das Lecithin nur äusserst langsam einwirkt und die saure Lösung selbst nach mehreren Tagen nur sehr wenig Neurin enthielt. Nach und nach wandte ich zu meinen Versuchen stärker saure Lösungen, 1-, 2-, 5-, 10procentig, an. Da die Einwirkung einer 10procentigen Lösung, obwohl noch langsam, doch erfolgreicher war, wählte ich eine solche, um den Verlauf der Einwirkung derselben auf das Lecithin zu studiren. Ich will noch bemerken, dass ich mit 20-, 30-, 50procentiger Säure keine an sich erheblich besseren Resultate erzielte.

## Zehnprocentige Schwefelsäure.

Eine wässrige 10procentige Schwefelsäure wurde anhaltend und tüchtig mit einer ätherischen Lecithinlösung geschüttelt und sodann etwa 12 Stunden stehen gelassen. Es ergab sich, dass erst sehr wenig Neurin und Phosphorsäure, von der Glycerinphosphorsäure aber nur Spuren in die saure Lösung übergegangen waren. Nach weiteren 24 Stunden, während derer häufig umgeschüttelt wurde, konnte eine Zunahme dieser Körper constatirt werden, welche sich bis zum 5. Tage steigerte; nach Verlauf dieser Zeit schien der bei Weitem grösste Theil des Lecithins durch die Schwefelsäure zersetzt zu sein.

Behufs einer völligen Erschöpfung wurde die Behandlung noch etwa vierzehn Tage lang fortgesetzt, bis schliesslich von

der sauren Flüssigkeit kein Neurin mehr, Glycerinphosphorsäure nur noch in Spuren aufgenommen wurde. In der ätherischen Lösung fand sich nach dem zwanzigsten Tage kein Neurin mehr vor, wohl aber eine grosse Menge Fettsäure, sehr wenig Glycerinphosphorsäure und Phosphorsäure.

### Zwanzigprocentige Schwefelsäure.

Bei Anwendung einer 20procentigen Schwefelsäure geht die Einwirkung bedeutend schneller vor sich. Die verdünnte saure Lösung enthielt bereits nach einviertelstündigem Umschütteln Neurin und Phosphorsäure, wenn auch nur erst sehr wenig. Nach zwölfstündiger Einwirkung ist der Gehalt an Neurin und Phosphorsäure bereits weit beträchtlicher, wie der in derselben Zeit durch zehnprocentige Säure erzielte; er steigt bis zum zweiten Tage. Von nun an nimmt er wieder ab und am neunten Tage konnte in der wässrigen sauren Lösung Neurin nicht mehr nachgewiesen werden. Die ätherische Flüssigkeit enthielt alsdann ebenfalls kein Neurin mehr, dagegen sehr viel Fettsäure, sehr wenig Glycerinphosphorsäure, aber keine Phosphorsäure.

### Funfzigprocentige Schwefelsäure.

Die Einwirkung verlief in ähnlicher Weise, wie in den beiden vorhergehenden Fällen, nur bedeutend rascher. Schon nach etwa zwölf Stunden vermindert sich der Gehalt der sauren Flüssigkeit an Neurin fortwährend; nach vier Tagen war kein Neurin mehr aufzufinden. Die nach dem vierten Tage untersuchte ätherische Lösung enthielt die nämlichen Zersetzungsproducte, wie die der beiden vorerwähnten Versuche.

Die kleinen Mengen Glycerinphosphorsäure, welche stets in den ätherischen Lösungen gefunden werden, wenn diese auch kein Neurin mehr enthalten, finden sich darin nicht in freiem Zustande vor; sonst hätten sie in die wässrige Lösung übergehen müssen. Sie scheinen aus der Einwirkung des Baryts auf einen phosphorhaltigen Körper, wahrscheinlich Distearinglycerinphosphorsäure, herzurühren.

Um die gewonnenen Resultate zu bestätigen, habe ich den Gang der Untersuchung, wie folgt, modificirt:

Eine ätherische Lecithinlösung wird in einem Scheidetrichter mit zehnprocentiger Schwefelsäure mehrere Tage (6) lang häufig geschüttelt; der saure Theil der Flüssigkeiten alsdann wie oben für A angegeben untersucht und darin viel Neurin, freie Phosphorsäure und sehr wenig Glycerinphosphorsäure gefunden.

Die ätherische Flüssigkeit wird durch Destillation vom Aether befreit, der Rückstand in heissem absoluten Alkohol gelöst, filtrirt und dann behufs der Neutralisation entweder mit einer alkoholischen Aetzkalilösung oder einer Kalicarbonatlösung versetzt. Man bringt hierauf das Gefäss in die Kälte. Nach etwa 24 Stunden trennt man die alkoholische Flüssigkeit von dem am Boden des Gefässes entstandenen Niederschlage; verdampft den Alkohol, fügt zum Rückstande Barytwasser, lässt etwa 1 Stunde aufkochen, kurz, man behandelt ihn, wie oben angegeben für die ätherische Lösung B auf Neurin, Phosphorsäure, Glycerinphosphorsäure und Fettsäure. Auf diese Weise konnte ich nachweisen, dass diese alkoholische Lösung noch viel Neurin, Glycerinphosphorsäure und Fettsäuren enthielt, was beweist, dass die ursprüngliche ätherische Flüssigkeit noch unzersetztes Lecithin enthielt.

Was den durch Abkühlen der alkoholischen Flüssigkeit entstandenen Niederschlag, welcher nach Diakonow aus distearinglycerinphosphorsaurem Kali besteht, betrifft, so habe ich darin, weil die erhaltene Menge zu gering war, weder den Phosphorgehalt, noch das Kali quantitativ bestimmen können. Dass der Niederschlag so sehr geringfügig war, glaube ich daraus erklären zu können, dass einerseits ein Theil des Lecithins noch unzersetzt geblieben, andererseits ein Theil unter Bildung freier Phosphorsäure völlig zerstört worden war. Ich habe mich daher darauf beschränken müssen, zu untersuchen, ob

1. der Niederschchlag Phosphor enthielt,
2. ob derselbe aus phosphorsaurem oder glycerinphosphorsaurem Kali besteht.

Dieserhalb wurde ein Theil mit Soda und Salpeter in einer Platinschaale geschmolzen; die Schmelze in Wasser gelöst und in der Lösung mit molybdänsaurem Ammon der bekannte gelbe Niederschlag erhalten. Der Niederschlag enthält also Phosphor.

Eine weitere Portion desselben wurde mit Wasser ausgewaschen; die filtrirte wässrige Lösung eingedampft; der Rückstand wiederum mit Soda und Salpeter geschmolzen und in auch dieser Schmelze auf bekannte Weise ebenfalls Phosphor, wenn auch nur sehr wenig, nachgewiesen.

Der in Wasser unlösliche Theil des Niederschlages wurde in derselben Weise auf Phosphor geprüft und enthielt relativ viel dieses Elementes; so dass damit nachgewiesen ist, dass der in Alkohol unlösliche Niederschlag keineswegs ausschliesslich aus phosphorsaurem respective glycerinphosphorsaurem Kali besteht; sonst hätte der Phosphor nur in der wässrigen Lösung gefunden werden müssen. Wir haben es hier also mit einem phosphorhaltigen organischen Körper zu thun, welcher nicht aus Glycerinphosphorsäure, sondern höchst wahrscheinlich aus dem Kalisalz der Distearinglycerinphosphorsäure besteht.

Ich will hier noch anführen, dass, wenn bei den ersten Operationen nicht sehr sorgfältig neutralisirt und ein wenn auch nur geringer Ueberschuss von Alkali angewandt wird, beim Abkühlen der alkoholischen Lösung ein bedeutender Niederschlag entsteht, welcher ausser kleinen Mengen eines phosphorhaltigen Körpers grosse Quantitäten von Kalisalzen fetter Säuren enthält, Salzen, welche in absolutem Alkohol sehr schwer löslich sind.

Die angeführten Versuche haben demnach folgende Resultate ergeben:

1. Die Einwirkung der Schwefelsäure auf das Lecithin geht erst nach und nach und sehr langsam von Statten.

2. Dieselbe nimmt zu mit der Concentration der Säure.

3. Durch Einwirkung der Schwefelsäure auf das Lecithin erhält man, neben kleinen Mengen der Glycerinphosphor-

säure und eines anderen phosphorhaltigen organischen Körpers (Distearinglycerinphosphorsäure?), verhältnissmässig beträchtliche Mengen freier Phosphorsäure.

### Einwirkung der Basen.

Auch bei der Untersuchung über die Einwirkung der Alkalien auf das Lecithin habe ich mich einer ätherischen Lösung dieses Körpers bedient, weil man denselben so am leichtesten zu behandeln und seine Zersetzungsproducte zu studiren vermag.

Eine ätherische Lecithinlösung wurde im Scheidetrichter gehörig mit verdünnter Natronlauge geschüttelt; schon nach kurzer Zeit lassen sich die beiden Flüssigkeiten nicht mehr trennen. Um dies und ein Uebereinanderlagern zu erreichen, setzt man zweckmässig einige Tropfen Alkohol hinzu, wodurch nach längerer Zeit dasselbe bewirkt wird. Man erhält so:

1. eine wässrige alkalische Flüssigkeit I,
2. eine ätherische Flüssigkeit II.

Nachdem beide Flüssigkeiten sorgfältig getrennt worden sind, entfernt man den Ueberschuss des Alkalis in I durch Einleiten von Kohlensäure, setzt sodann zu der wässrigen Lösung eine solche von Baryumnitrat bis zur Entstehung eines Niederschlages, erwärmt, um die geringen Mengen Alkohol und Aether, welche etwa noch vorhanden sind, zu entfernen, und filtrirt.

Es resultiren:

1. eine neutrale wässrige Flüssigkeit $\alpha$,
2. ein barythaltiger Niederschlag $\beta$.

In der neutralen wässrigen Flüssigkeit $\alpha$ sucht man nach Neurin und Glycerinphosphorsäure, wie oben für a angegeben, während man in $\beta$ die Phosphorsäure und Fettsäuren nachweisen kann.

Die ätherische alkalische Flüssigkeit II wird untersucht, wie oben für B angegeben.

Um mich zu überzeugen, dass die in der wässrigen Lösung gefundene Glycerinphosphorsäure nicht von der spä-

teren Zersetzung des distearinglycerinphosphorsauren Alkalis herrührt, habe ich das Verfahren auf folgende Weise modificirt:

Nachdem die ätherische Lecithinlösung und die verdünnte Natronlauge umgeschüttelt worden waren, wurde sehr verdünnte Schwefelsäure bis zur schwach sauren Reaction hinzugefügt. Darauf liess ich kurze Zeit absetzen und erhielt so:

1. eine wässrige schwach saure Flüssigkeit α′,
2. eine ätherische schwach saure Flüssigkeit β′.

Diese beiden Flüssigkeiten werden nun untersucht, wie für A und B angegeben.

Es mögen nun die durch Befolgung beider eben beschriebenen Methoden erhaltenen Resultate, welche fast völlig übereinstimmen, folgen:

**I. Alkalische Lösung.**

| | Wässriger Theil: | Aetherischer Theil: |
|---|---|---|
| 5 % Natronlauge: | Neurin.<br>Glycerinphosphorsäure.<br>Fettsäuren (Salze). | Kein Neurin.<br>Keine Glycerinphosphorsäure.<br>Sehr wenig Fettsäuren. |
| 1 % Natronlauge: | Neurin.<br>Glycerinphosphorsäure.<br>Fettsäuren (Salze). | Kein Neurin.<br>Keine Glycerinphosphorsäure.<br>Sehr wenig Fettsäuren. |
| 1 ‰ Natronlauge: | Neurin.<br>Glycerinphosphorsäure.<br>Fettsäuren. | Neurin.<br>Keine Glycerinphosphorsäure.<br>Fettsäuren. |

**II. Schwach saure Lösung.**

| | Wässriger Theil: | Aetherischer Theil: |
|---|---|---|
| 5 % Natronlauge: | Neurin.<br>Glycerinphosphorsäure.<br>Keine Fettsäuren. | Kein Neurin.<br>Keine Glycerinphosphorsäure.<br>Viel Fettsäuren. |
| 1 % Natronlauge: | Neurin.<br>Glycerinphosphorsäure.<br>Keine Fettsäuren. | Kein Neurin.<br>Keine Glycerinphosphorsäure.<br>Viel Fettsäuren. |
| 1 ‰ Natronlauge: | Neurin.<br>Glycerinphosphorsäure.<br>Fettsäuren. | Neurin.<br>Glycerinphosphorsäure.<br>Fettsäuren. |

Der einzige sich ergebende Unterschied betrifft die Fettsäuren. Operirte ich mit alkalischer Lösung, so erhielt ich fast die ganze Menge der Fettsäuren in wässriger Lösung als Salze (Seifen); nur ein sehr geringer Theil findet sich im Aether gelöst vor, während bei der II. Operation die Seifen durch die schwach saure Lösung zersetzt und die frei gewordenen Fettsäuren vom Aether aufgenommen wurden. Die anderen Resultate beider Methoden sind identisch. Es ist bemerkenswerth, dass das Neurin bei Behandlung mit alkalischer Lösung in den wässrigen Theil der Flüssigkeiten übergeht, was sich wohl daraus erklären lässt, dass behufs beschleunigter Trennung in zwei Schichten, was in Folge der Seifenbildung nur äusserst schwierig vor sich geht, zu der ätherisch-wässerig-alkalischen Flüssigkeit etwas Alkohol hinzugefügt wurde.

Aus den erwähnten Versuchen geht hervor, dass Natronlauge selbst in sehr verdünnter Lösung (1 per Cent) sehr energisch und schnell auf das Lecithin unter völliger Zersetzung desselben einwirkt. Als Zersetzungsproducte werden Neurin, Glycerinphosphorsäure und Fettsäuren, respective deren Salze, erhalten. Eine noch schwächere Aetznatronlösung (1 pro Mille) zersetzt ebenfalls einen Theil des Lecithins vollständig, während der Rest intact bleibt. Durch wiederholtes Behandeln und längeres Einwirkenlassen erreicht man aber auch hier schliesslich völlige Zersetzung.

---

Die Ergebnisse, zu denen ich durch meine Untersuchnngen gelangt bin, lassen sich wie folgt kurz zusammenfassen:

Das Lecithin ist n i c h t als salzartige Verbindung, in welcher das Neurin die Rolle der Base spielt, aufzufassen, sondern vielmehr als eine ätherartige, in der dieser Körper die Stelle des Alkohols vertritt. Dies ergiebt sich aus der Einwirkung der Säure, wie der Basen auf dasselbe.

Da, wie ich nachgewiesen habe, die Einwirkung der Schwefelsäure auf das Lecithin durchaus nicht glatt vor sich geht, so ähnelt dieselbe keineswegs der Zersetzung des Salzes

einer schwachen Säure durch eine viel stärkere, einer Zersetzung, welche bei den Bedingungen, unter denen ich operirt habe, viel rascher und vollständiger selbst mit sehr verdünnter Schwefelsäure hätte eintreten müssen. Diese langsame und unvollständige Einwirkung der Schwefelsäure ist im Gegentheil sehr bezeichnend für eine Hydratation. Die Säure reagirt anfangs unter Wasseranlagerung auf das Lecithin, wodurch Neurin und Distearinglycerinphosphorsäure entstehen; im weiteren Verlaufe dieser Einwirkung bilden sich freie Phosphorsäure, Glycerinphosphorsäure und Fettsäuren. Diese verschiedenen Reactionen gehen langsam und unvollständig von Statten; es bleiben in der That stets, wie oben bemerkt, kleine Quantitäten unzersetzter Distearinglycerin- und Glycerinphosphorsäure zurück.

Ein weiterer Beweis dafür, dass die Schwefelsäure wasseranlagernd auf das Lecithin wirkt, ist die Einwirkung überhitzten Wasserdampfes auf dasselbe. Wenn nach Diakonow[1]) Lecithin mit Wasser im Rohr auf 120° erhitzt wird, erhält man nach dem Erkalten 2 Schichten, deren obere ein Gemenge unzersetzten Lecithins und Fetts, wahrscheinlich freier Fettsäuren ist, während die klare wässrige stark sauer reagirende Lösung neben Neurin und Phosphorsäure auch kleine Mengen Glycerinphosphorsäure einschliesst. Diese Producte sind, was wohl zu bemerken ist, identisch mit denen, welche ich durch die nicht zu sehr in die Länge gezogene Einwirkung verdünnter Schwefelsäure auf das Lecithin erhalten habe, nämlich:

1. unzersetzes Lecithin,
2. Fett oder Fettsäuren,
3. Neurin,
4. kleine Mengen Glycerinphosphorsäure,
5. freie Phosphorsäure,
6. kleine Mengen einer organischen N-haltigen Substanz, wahrscheinlich Distearinglycerinphosphorsäure.

Diakonow erwähnt nicht, dass er diese letztere Substanz, welche sich wahrscheinlich in geringer Menge in dem

1) Med.-chem. Untersuchungen, Tübingen 1868, S. 405.

Gemisch von Lecithin und Fett, von dem er spricht, befand, gefunden habe.

Der Verlauf der Einwirkung sehr verdünnter kalter Natronlauge auf das Lecithin ist ebenfalls ein Beweis dafür, dass dieser Körper keine salzartige Verbindung ist. Wenn das Lecithin wirklich ein Neurinsalz wäre, so müsste doch schon sehr verdünnte Natronlauge das Neurin frei machen, bevor sie dasselbe völlig zersetzt.

Nun habe ich aber gefunden, dass mit einer wässrigen Natronlauge von 1 pro Mille ein Theil des Lecithins bereits vollständig, der anfänglich intact gebliebene andere Theil aber durch weiteren Zusatz der Lauge (1 pro Mille) ebenso zersetzt wird.

Wie ich in der Einleitung bemerkt habe, stützt Diakonow seine Ansicht, dass das Lecithin ein Neurinsalz der Distearinglycerinphosphorsäure sei, auf 2 Thatsachen: erstens auf die Einwirkung des Barytwassers, welches das Lecithin in freies Neurin und Bariumsalze der Glycerinphosphorsäure und Phosphorsäure zerlegt; zweitens auf die Einwirkung verdünnter Schwefelsäure auf jenen Körper, welche, nach jenem Forscher, schnell reagiren und ihn unter Bildung von Neurinsulfat und freier Distearinglycerinphosphorsäure zersetzen soll. Ich will die beiden Punkte näher beleuchten. Was die Einwirkung des Barytwassers anlangt, so will ich nur bemerken, dass diese Reaction ebenso gut durch die Annahme, dass das Lecithin eine ätherartige Verbindung sei, erklärt wird; in Betreff der der Schwefelsäure aber habe ich den Nachweis geführt, dass diese Säure durchaus nicht schnell einwirkt, wie es der Fall sein müsste, wenn es sich um eine salzartige Verbindung des Neurins, wie Diakonow ja behauptet, handelte. Im Gegentheil weist die sehr langsame Einwirkung der Säure viel eher auf eine Hydratation hin; um so mehr, da neben kleinen Mengen Distearinglycerinphosphorsäure verhältnissmässig viel Phosphorsäure und freie Fettsäuren entstehen. Die Argumente Diakonow's halten diesen Thatsachen gegenüber nicht Stand.

Die folgenden Betrachtungen mögen einen weiteren Beweis dafür liefern, dass das Lecithin nicht als salzartige Verbindung angesehen werden darf.

1. Eine alkoholische Lecithinlösung giebt, mit alkoholischer Platinchloridlösung versetzt, einen in Aether und Chloroform leicht löslichen Niederschlag, welcher nach Strecker unzersetztes Lecithin, und zwar zwei Moleküle HCl-Lecithin und 1 Molekül Platinchlorid, enthält:

$$2\,PO\begin{cases}OC_{39}H_{75}O_4\\OH\\\left.\begin{matrix}O.C_2H_4\\(CH_3)_3\end{matrix}\right\}N.OH\end{cases} + \frac{2\,HCl}{PtCl_4} = \left(PO\begin{cases}C_{39}H_{75}O_4\\OH\\\left.\begin{matrix}O.C_2H_4\\(CH_3)_3\end{matrix}\right\}N.Cl\end{cases}\right)_2 PtCl_4 + 2\,H_2O$$

Obgleich nachgewiesen worden ist, dass der mittelst Platinchlorid erhaltene Niederschlag nicht einheitlich ist, und unter andern stets etwas Neurinplatinchlorid enthält, so wirkt das Platinchlorid dennoch nicht so auf das Lecithin ein, wie es der Fall sein würde, wenn dies ein Salz des Neurins wäre.

2. Das distearinglycerinphosphorsaure Neurin, synthetisch von Hundeshagen[1]) dargestellt, giebt, in alkoholischer Lösung mit alkoholischem Platinchlorid versetzt, einen in Alkohol und Aether unlöslichen Niederschlag von Neurinplatinchlorid. Diese Reaction verläuft nach folgender Gleichung:

$$2\,PO\begin{cases}OC_{39}H_{75}O_4\\OH\\ON\left\{\begin{matrix}(CH_3)_3\\C_2H_4OH\end{matrix}\right.\end{cases} + \frac{PtCl_4}{2\,HCl} = 2\,PO\begin{cases}OC_{39}H_{75}O_4\\OH\\OH\end{cases} + (C_5H_{14}ONCl)_2PtCl_4$$

---

Zum Schlusse sei mir gestattet, die Hauptresultate meiner Untersuchungen zusammenzustellen.

1. Durch Einwirkung verdünnter Schwefelsäure auf Lecithin entsteht freie Phosphorsäure; während verdünnte Alkalien Glycerinphosphorsäure liefern.
2. Lecithin wird durch verdünnte Säuren nur sehr langsam angegriffen.

---

[1]) Hundeshagen, Journal für pract. Chemie, 1883, Bd. 28, S. 219.

3. Es wird durch verdünnte Alkalien viel schneller und energischer zersetzt.
4. Es ist nicht als Salz der Distearinglycerinphosphorsäure; sondern als eine ätherartige Verbindung anzusehen.

Bei der Bearbeitung des Lecithins kann seiner leichten Zersetzbarkeit durch Alkalien halber hierauf nie Rücksicht genug genommen werden.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor F. Hoppe-Seyler für die jederzeit mir bereitwilligst ertheilten Rathschläge im Verlauf dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank zu sagen.

Physiologisch-chemisches Institut Strassburg, März 1888.

---



